

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ
ІМЕНІ ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»

Худий Олексій Ігорович



УДК: 606:639.3(477.8)

**БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ЗАСАДИ ЗБЕРЕЖЕННЯ ТА ВІДТВОРЕННЯ
РИБНИХ РЕСУРСІВ ВОДОЙМ КАРПАТСЬКОГО РЕГІОНУ**

03.00.20 – біотехнологія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора біологічних наук

Київ – 2019

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі біохімії та біотехнології Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича

Науковий консультант: доктор біологічних наук, професор,
заслужений діяч науки і техніки України
Марченко Михайло Маркович,
Чернівецький національний університет
імені Юрія Федьковича,
директор Інституту біології, хімії та біоресурсів

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор,
член-кореспондент НАН України
Іваниця Володимир Олексійович,
Одеський національний університет
імені І.І. Мечникова,
проректор з наукової роботи

доктор біологічних наук, старший науковий
співробітник

Потрохов Олександр Спиридонович,
Інститут гідробіології НАН України,
завідувач відділу біології відтворення риб

доктор технічних наук, старший науковий
співробітник

Карпенко Олена Володимирівна,
Відділення фізико-хімії горючих копалин
Інституту фізико-органічної хімії і вуглехімії
ім. Л.М. Литвиненка НАН України,
завідувач відділу хімії і біотехнології горючих
копалин

Захист відбудеться 26 червня 2019 р. о 11-00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.002.28 Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського» (03056, м. Київ, просп. Перемоги, 37, корпус 4, ауд. 258).

З дисертацією можна ознайомитись у Науково-технічній бібліотеці ім. Г.І. Денисенка Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського» за адресою: 03056, м. Київ, просп. Перемоги, 37.

Автореферат розіслано 25 травня 2019 р.

В.о. вченого секретаря спеціалізованої
вченої ради



Т.С. Годосійчук

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Інтенсивне комплексне використання гідроекосистем Карпатського регіону у різних галузях господарської діяльності (рибне господарство, рекреація, гідроенергетика тощо) зумовило істотне зменшення чисельності або й повне зникнення популяцій окремих видів риб, що вимагає запровадження заходів по зарибленню природних водойм молоддю аборигенних видів. Ефективним методом отримання зарибку для реінтродукції є застосування технологій інтенсивної аквакультури, які базуються на сучасних досягненнях біотехнології (Буцацький та ін., 2018; Siqueira-Silva et al., 2018). Прикладом успішного використання біотехнологічних методів з природоохоронною метою є роботи з відтворення низки раритетних видів риб у країнах Європейського Союзу. Зокрема, в країнах Балтії вдалося відновити популяції кумжі *Salmo trutta* Linnaeus, 1758 та атлантичного лосося *S. salar* Linnaeus, 1758 (Kesminas, 2013; Leliūna, 2013; Zingis, 2013), у Словаччині та Чеській Республіці – головатиці *Hucho hucho* (Linnaeus, 1758) (Hanel et al., 2013), балтійської популяції атлантичного осетра *Acipenser oxyrinchus* Mitchell, 1815 у Польщі (Kolman et al., 2014) та європейського осетра *A. sturio* Linnaeus, 1758 у країнах Західної Європи (Carrera-García et al., 2016).

У технології штучного відтворення риб і підрощування отриманого потомства до життєздатного стану успішно використовуються рибоводні установки замкнутого водопостачання (УЗВ), перевага яких полягає у можливості повного контролю та корекції умов утримання у відповідності до фізіологічних потреб вирощуваних об'єктів (Timmons, Ebeling, 2007; Брайнбалле, 2010). Проте, в таких установках за умов ущільненої посадки зростає ризик розвитку стресорних реакцій (Oliva-Teles, 2012). Частково дана проблема вирішується шляхом введення в корми різних біологічно активних речовин. Зокрема, відомим є позитивний вплив каротиноїдів на молодь риб (Czeczuga et al., 2006), а також на процеси статевого дозрівання та функціональний стан плідників в умовах аквакультури (Забитівський, 2014). Основними джерелами есенціальних нутрієнтів в аквакультурі все ще залишаються рибне борошно та риб'ячий жир, що істотно підвищує собівартість кормів (Tacon, Metian, 2008). Виходом з ситуації, що склалася, може бути часткове заміщення основних компонентів на альтернативну сировину, зокрема продукти мікробного синтезу, а також продукти переробки біомаси водоростей (Nemaiswarya et al., 2011).

При проведенні робіт із зариблення природних водних об'єктів найбільші втрати спостерігаються протягом початкового періоду, що пов'язано з істотною відмінністю в якості життєвого середовища в аквакультурних та натурних умовах. При зміні середовищ виживають організми з високим адаптивним потенціалом. Відповідно, актуальною є розробка технології отримання рибопосадкового матеріалу аборигенних видів із підвищеною життєздатністю задля підвищення ефективності

процесу їх реінтродукції у природні водойми. Для підрощення ранньої молоді риб за інтенсивною технологією широко використовуються живі корми, що пов'язано з їх високою засвоюваністю (Abowei, Ekubo, 2011; Das et al., 2012). Це особливо важливо на початкових етапах розвитку риб, коли для травної системи характерна низька ензиматична активність. Відповідно, при переході на екзогенне живлення у личинок риб травлення значною мірою забезпечується гідролітичними ферментами спожитого живого корму (Остроумова, 2012). Кормові організми є не лише джерелом нутрієнтів, але й можуть слугувати засобом доставки в організм личинок різноманітних есенціальних сполук, мікроелементів, пробіотиків, терапевтичних препаратів (Dey et al., 2015; Nordgreen et al., 2013), що забезпечує підвищення рівня виживаності та прискорення темпів росту (Kadhar et al., 2014).

Розробка ефективних технологій з отримання рибопосадкового матеріалу аборигенних видів риб у перспективі уможливить залучення фермерських рибницьких господарств до природоохоронних програм, що дозволить їм диверсифікувати джерела отримання прибутку. Це стимулюватиме розвиток рибогосподарської діяльності, позитивно позначиться на економічній ситуації на місцях, сприятиме наповненню бюджету та створенню робочих місць в об'єднаних територіальних громадах, що відповідає стратегії їх розвитку (Гарасюк та ін., 2018).

Таким чином, впровадження цілісної системи заходів з біотехнології штучного відтворення аборигенних видів риб дасть можливість відновити їх чисельність та в повній мірі реалізувати господарський, рекреаційний та екологічний потенціал водойм Карпатського регіону.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота виконана на кафедрі біохімії та біотехнології Інституту біології, хімії та біоресурсів Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича (ЧНУ) в рамках наступних науково-дослідних робіт: «Оцінка сучасного стану та розробка аквакультурних методів підтримки біологічного різноманіття реофільних коропових риб річок Білорусі та України» (2017 р., № ДР 0117U003700), «Біохімічні аспекти респонсивної інтеграції метаболізму есенціальних нутрієнтів» (2015-16 рр., № ДР 0115U003231), «Застосування біотехнологічних підходів у штучному відтворенні аборигенних риб з метою реінтродукції» (2017-19 рр., № ДР 0117U001155), «Біохімічні принципи застосування нутрієнтних факторів і вторинних метаболітів про- та еукаріот в попередженні і корекції патологічних станів» (2011-15 рр., № ДР 0111U002503), «Розроблення проекту організації території національного природного парку "Хотинський", охорони, відтворення та рекреаційного використання його природних комплексів і об'єктів» (2012 р., № ДР 0112U004894), «Створення першого репродуктивного центру для відтворення аборигенних видів риб на Дністрі» (2016 р., за фінансування благодійного фонду НІКО-Крона), Грант Президента України для підтримки наукових досліджень молодих учених

«Біологічні засади збереження та відтворення вирезуба *Rutilus frisii* (Nordmann)» (2007 р., № ДР 0107U003872), «Environmental Protection of International River Basins» (2013 р., SC № 2011/279-666, EuropeAid/131360/C/SERMULTI, Ares (2013)2633879), «Науково-біологічне обґрунтування здійснення штучного розведення, вирощування риби та невиснажливого використання її запасів у рибогосподарських водних об'єктах Кельменецького району Чернівецької області» (2009 р., № ЧНУ 55.02, керівник роботи), «Комплексна оцінка сучасного стану іхтіоценозу Дністровського водосховища у світлі оптимізації його експлуатації: розрахунок запасів, а також лімітів вилову основних промислових видів риб» (2009 р., № ЧНУ 55.01, керівник роботи).

Мета та задачі дослідження. *Мета роботи* – розробка та застосування сучасних біотехнологічних підходів задля підвищення ефективності технологій штучного відтворення аборигенних видів риб Карпатського регіону.

Для досягнення поставленої мети були сформульовані наступні **завдання**:

1. З'ясувати актуальний стан рибних ресурсів басейнів Пруту, Сірету та Дністра в межах Карпатського регіону та визначити перелік видів риб, щодо яких є доцільним запровадження технологій штучного відтворення для подальшого зариблення.

2. Розрахувати біологічну ємність гідроекосистем стосовно окремих видів, які пропонуються для зариблення.

3. Розробити нові та оптимізувати існуючі технологічні підходи до штучного відтворення аборигенних видів риб шляхом підбору умов переднерестового утримання в УЗВ вилучених з природи плідників, розробки технологічного режиму стимуляції та отримання статевих продуктів, інкубації заплідненої ікри.

4. Розробити невитратні методи нарощування біомаси живих кормів в умовах інтенсивної аквакультури.

5. Розробити технологічний режим біоінкапсуляції есенціальних нутрієнтів та біологічно активних речовин у живі корми задля прискорення темпів росту та підвищення життєздатності личинок риб.

6. Апробувати можливість використання речовин із стимулюючими властивостями для пришвидшення темпів росту молоді аборигенних видів риб в умовах інтенсивного вирощування.

7. На основі аналізу значень біохімічних маркерів функціонального стану організму з'ясувати адаптивні можливості молоді риб, вирощеної на модифікованих живих кормах, до дії стресорних чинників навколишнього середовища.

Об'єктом дослідження є біотехнологія штучного відтворення господарсько-цінних і раритетних видів риб.

Предметом дослідження є технологічні параметри штучного відтворення аборигенних видів риб Карпатського регіону з використанням установок замкнутого водопостачання, технологія отримання функціональних живих кормів, а також властивості отриманих кормових організмів.

Методи дослідження: біохімічні, мікробіологічні, рибиницькі, іхтіологічні, гідробіологічні, гідрохімічні, статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше з вилучених з природних умов особин стерляді прісноводної *Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758 з верхньодністровської популяції, вирезуба причорноморського *Rutilus frisii* (Nordmann, 1840), марени звичайної *Barbus barbus* (Linnaeus, 1758) сформовано в неволі стійкі репродуктивні стада для отримання зарибку, призначеного для реінтродукції у природні водойми.

Вперше розроблена технологія біоінкапсуляції прісноводного зоопланктону каротиноїдами з використанням дріжджів *Rhodotorula glutinis* та *Rhodotorula rubra*, що дозволило підвищити вміст астаксантину та інших ксантофілів у живих кормах для риб.

Як стимулятор росту при вирощуванні риби в установках замкнутого водопостачання використано γ -котонолактонвмісний препарат ДОН-1R. Розроблена технологія його застосування для нарощення біомаси кормових організмів.

Показана можливість застосування цеолітів з родовища «Полицьке 2» як джерела мікроелементів при виготовленні гранульованих кормів, а також їх використання у технології водопідготовки в умовах інтенсивної аквакультури.

Результати роботи обґрунтовують доцільність застосування біотехнологічних прийомів штучного відтворення у заходах зі збереження видового різноманіття риб Карпатського регіону.

Практичне значення одержаних результатів. За результатами виконаних досліджень проведено комплексну оцінку стану водойм Карпатського регіону, що дозволило обґрунтовано розробити рекомендації з раціональної експлуатації рибних ресурсів та окреслити основні напрямки не лише збереження, але й відтворення видового різноманіття риб. Автором розроблено науково-біологічне обґрунтування використання водних живих ресурсів Дністровського водосховища (2009), в якому розраховані ліміти вилучення основних промислових видів риб, затверджені в подальшому відповідними наказами Міністерства охорони навколишнього природного середовища України та Мінагрополітики. У 2016 р. розроблено науково-біологічне обґрунтування обсягів зариблення Дністровського водосховища стерляддю прісноводною (*A. ruthenus*), а в 2018–2019 рр. – молоддю сома європейського (*Silurus glanis* Linnaeus, 1758), судака звичайного (*Sander lucioperca* (Linnaeus, 1758)) та щуки звичайної (*Esox lucius* Linnaeus, 1758), на основі яких проведено вселення отриманого в умовах аквакультури

рибопосадкового матеріалу у досліджуване водосховище, що відображено у відповідних документах.

Застосування методів біоінкапсуляції каротиноїдів та есенціальних поліненасичених жирних кислот у живі корми забезпечує зменшення показників смертності ранньої молоді осетрових риб при переході на екзогенне живлення, а також прискорення темпів росту личинок. Розроблені технології можуть бути використані не лише при отриманні зарибку для реінтродукції, але й для товарного рибництва.

Розроблена технологія застосування цеолітів з родовища «Полицьке 2» забезпечує підвищення ефективності процесу водопідготовки в умовах інтенсивної аквакультури.

Розроблені способи застосування зворотної води з рибоводних УЗВ як культивацийного середовища для кормового зоо- та фітопланктону захищено відповідними патентами України на корисні моделі.

Результати дисертаційної роботи використані в навчальному процесі під час розробки та викладання дисциплін «Інтенсивні технології в аквакультурі» та «Біотехнологія культивування кормових організмів» для студентів освітніх рівнів «Бакалавр» та «Магістр» спеціальності «Біотехнології та біоінженерія».

Особистий внесок здобувача. Планування та підготовка дисертаційної роботи здійснені автором особисто. Викладені в дисертації результати експериментальних досліджень одержано за безпосередньої участі автора або під його керівництвом. Співвиконавці виконаних досліджень наводяться як співавтори відповідних наукових публікацій. Пошукувачем були висунуті основні гіпотези, на яких базується ідея дисертаційної роботи.

Одержання накопичувальних культур каротинсинтезуючих дріжджів *Rhodotorula glutinis* і *R. rubra*, зелених мікроводоростей *Desmodesmus armatus* проводили спільно з к.б.н. Л.М. Васиною, к.б.н. Л.М. Чебан. Біоінкапсуляцію науплій артемії та підрощення ранньої молоді осетрових і сома європейського проводили спільно з співробітниками Інституту прісноводного рибництва імені Станіслава Саковіча в Ольштині (IRS) професором Р. Кольманом, докторами А. Капустою та М. Прусінською, А. Дудою, Г. Вішневським, директором ФГ «Ішхан» Л. Тертерьяном, а також співробітниками кафедри біохімії та біотехнології ЧНУ. Визначення біохімічних показників у кормових організмів та риб різних вікових категорій проводили спільно з к.б.н. Л.В. Худюю і к.б.н. О.В. Кушнірик. Аналізи по визначенню вмісту жирних та амінокислот виконували в Інституті біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України. Вплив пробіотиків досліджували спільно з член-кореспондентом НАНУ М.Я. Співаком, стимулюючий ефект препарату ДОН-1R вивчали спільно з д.х.н. В.П. Новиковим. Вплив туфу на якість води аналізували разом з д.х.н. І.М. Кобасою. Видовий склад фітопланктону визначали спільно з к.б.н. М.І. Чередарик (ЧНУ), зоопланктону – доктором Я. Туновським (IRS).

Особисто автором описані результати досліджень, проведено їх аналіз та обговорення, сформульовано висновки. Автор висловлює щирю вдячність зазначеним науковцям та всім, хто сприяв виконанню дисертаційної роботи. Особливу подяку здобувач висловлює науковому консультанту доктору біологічних наук, заслуженому діячу науки і техніки України, професору М.М. Марченку за підтримку та поради під час підготовки дисертаційної роботи.

Апробація результатів дисертації. Основні положення роботи доповідались та обговорювались на міжнародних і всеукраїнських конференціях та конгресах, серед яких 2nd International Aquaculture Conference “Recirculating Aquaculture Systems (RAS): Life Science and Technologies” (2017.05.04, Daugavpils), IV International Scientific and Technical Conference «State and prospects of food science and industry» (Ternopil, 11–12.10.2017), VIII та IX Всеукраїнські науково-практичні конференції «Біотехнологія XXI століття» (Київ, 2014–2015 pp.), The 9th International Congress of Comparative Physiology and Biochemistry, (23–28.08.2015, Kraków, Poland), XI Український біохімічний конгрес (6–10.10.2014, Київ), V–VII З’їзди гідроекологічного товариства України (2005, 2010, 2015 pp.), I–XI Міжнародні іхтіологічні науково-практичні конференції «Сучасні проблеми теоретичної і практичної іхтіології» (2008–2018 pp.), Международная научно-практическая конференция «Аквакультура осетровых: современные тенденции и перспективы» (18.05.2016, Херсон), Международный научно-практический семинар по индустриальной аквакультуре «Инновационные технологии рыбоводства в рециркуляционных системах» (18–19.05.2015, Горки, Беларусь), Aquaredpot Workshop on Innovative Outdoor Fish Farming Technologies (19–20.05.2014, Vodňany, Czech Republic), AQUARED POT Workshop on Recirculating Aquaculture (13-14.05.2013, Vilnius, Lithuania), Международная конференция «Управление трансграничной рекой Днестр в рамках бассейнового Договора» (20–21.09.2013, Кишинев, Молдова), First International Conference of Fish Diversity of Carpathians (Stara Lesna, Slovakia, 22–23.09.2011), 5-th Polish-Ukrainian Weigl Conference on Microbiology (23–25.05.2013, Chernivtsi).

Публікації. За результатами досліджень опубліковано 83 наукові праці, у тому числі розділи у 3 монографіях, 31 стаття у наукових фахових виданнях (з них 16 статей у виданнях іноземних держав, 4 – у виданнях України, які включені до міжнародних наукометричних баз), 7 статей в інших виданнях, 3 патенти на корисну модель, 38 тез доповідей в збірниках матеріалів конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, опису результатів досліджень, їх аналізу та обговорення (5 розділів), висновків, списку використаних джерел (367 найменувань), додатків. Основний зміст роботи викладено на 365 сторінках друкованого тексту, містить 114 рисунків та 37 таблиць.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Розділ 1. ЗАСТОСУВАННЯ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ПІДХОДІВ В АКВАКУЛЬТУРІ

У розділі узагальнено наявну в науковій літературі інформацію щодо сучасних досягнень блакитного сектору біотехнології, який розглядається як черговий крок у технологічній еволюції сучасної аквакультури (Letourneau, 2012). Проаналізовано пріоритетні напрямки досліджень у сфері аквакультури та перспективу застосування біотехнологічних підходів для вирішення основних завдань, які стоять перед сучасною аквакультурою. Показана можливість отримання природоохоронного ефекту від використання біотехнологічних методів в технологіях штучного відтворення гідробіонтів.

Розділ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дисертаційну роботу виконували протягом 2005–2019 років у Чернівецькому національному університеті імені Юрія Федьковича.

Дослідження видового складу іхтіофауни та оцінку стану рибних запасів проводили на основі аналізу уловів сітних знарядь за типовою методикою (Озінковська та ін., 1998) в ході виконання науково-дослідного контрольного лову (дозвіл № ДКРГ 036), браконьєрських уловів під час рейдових перевірок спільно з органами рибоохорони та уловів рибалок-аматорів. Відлов плідників стерляді, вирезуба та марени здійснювали згідно з Дозволами Міністерства екології та природокористування України № 2012/19 та 2018/3. Вивчення стану гідроекосистем та розвитку природної кормової бази риб проводили традиційними методами (Арсан та ін., 2006; Кражан, Хижняк, 2009). Потенційну рибопродуктивність розраховували за рівнем розвитку природної кормової бази (Балтаджі, 2005). Розрахунок обсягів зариблення проводили з врахуванням різниці потенційної та фактичної рибопродуктивності, прогнозованої частки виду в іхтіоценозі та відсотка доживання зарибку до статевозрілого віку.

Проектування експериментальної рибоводної установки замкнутого водопостачання та розрахунок необхідних технічних характеристик її основних вузлів здійснювали відповідно до наявних виробничих площ з урахуванням біологічних особливостей риб, яких планували утримувати (Timmons, Ebeling, 2007). Розробку біотехнології вирощування верхньодністровської стерляді в умовах УЗВ здійснювали відповідно до базових рекомендацій з аквакультури осетрових (Kolman, 2010; Васильєва і др., 2014). Розрахунок основних ростових параметрів вирощуваних риб проводили за відповідними формулами (Lugert et al., 2014). Всіх риб з масою тіла від 180 г позначили магнітними мітками Trovan® ID-100 з десятизначним кодом, що забезпечило можливість моніторингу кожної конкретної особини.

Для вивчення впливу кормових добавок різної природи на організм риб методом вологого пресування виготовляли гранульований корм (Худий та

ін., 2016). Досліджували субстанції (цеоліти, поліненасичені жирні кислоти, пробіотики) вводили в корми у процесі їх виготовлення.

Стать вперше дозрівалих плідників стерляді та стадію зрілості гонад визначали методами ультразвукової діагностики та біопсії, при наявності ооцитів з накопиченим меланіном визначали індекс поляризації (Kolman, 2010; Чебанов, Галич, 2013). Для стимуляції дозрівання плідників верхньодністровської стерляді застосовували осетровий та короповий гіпофіз. Відбір ікри проводили методом Подушки (Podushka, 1999). Інкубацію заплідненої ікри здійснювали в апаратах Вейса та МкДональда (Kolman, 2010). Переведення личинок на зовнішнє живлення проводили з використанням живих кормів.

Біотехнологію модифікації нутрієнтного складу живих кормів методом біоінкапсуляції апробували на монокультурах *Moina macrocopa* (Straus, 1820), *Simocephalus vetulus* (Muller, 1776), *Daphnia magna* Straus, 1820 та *Artemia* sp. Як джерело каротиноїдів для насичення кормового зоопланктону були обрані здатні до каротиногенезу дріжджі *Rhodotorula glutinis* (УКМ Y-1242) та *Rhodotorula rubra*. Отримані в результаті опромінення ультрафіолетом мутантні форми *R. glutinis* з посиленою здатністю до каротиногенезу культивували сумісно з молочнокислими бактеріями роду *Lactobacillus* на модифікованому середовищі з молочної сироватки з наступним складом (г/л): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 6,0; KH_2PO_4 – 5,5; Na_2HPO_4 – 3,0; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5; дріжджовий екстракт – 5,0, pH 5,5. Отриману біомасу мікроорганізмів стандартизували за кількістю клітин дріжджів (24×10^6 КУО/л) та використовували як кормовий субстрат для зоопланктону.

Для біоінкапсуляції поліненасичених жирних кислот у живі корми використовували препарати з різним співвідношенням докозагексаєнової та ейкозапентаєнової жирних кислот. Для попередження нутрієнтної депривації у кормових організмів була оцінена можливість застосування в різних концентраціях альгологічно чистих культур *Desmodesmus armatus* (Chodat) E.H.Hegewald 2000, препаратів NuPro (Alltech Inc., UK) та AlgaMac Protein Plus (Aqua fauna Bio-Marine, Inc., USA), які являють собою протеїн-багаті кормові добавки. Для зменшення витрат при культивуванні кормових організмів була апробована можливість використання як альтернативного середовища скидної води з рибоводної установи замкнутого водопостачання. Для підвищення ефективності очищення води при культивуванні кормового зоопланктону, а також в УЗВ при вирощуванні риби використовували цеолітвмісний туф з родовища «Полицьке 2» (Цимбалюк, 2011). Термічну активацію та прожарювання туфу проводили при 150 та 1000°C відповідно. Пришвидшення нарощення біомаси прісноводного живого корму досягали шляхом застосування γ -котонолактон-вмісного препарату ДОН-1R (Zvarych et al., 2019). Ефективність застосування модифікованих живих кормів вивчали на

личинках стерляді прісноводної (*A. ruthenus*), атлантичного осетра (*A. oxyrinchus*), сома європейського (*Silurus glanis* L.) та коропа звичайного (*Cyprinus carpio* L.). Добова норма внесення живого корму складала 100% від біомаси риби.

У кормових організмах та личинках риб визначали вміст основних пластичних речовин, а також значення фізіолого-біохімічних індикаторів функціонального стану організму. Екстракцію ліпідів проводили за Фолчем (Folch et al., 1957), загальні ліпіди визначали із застосуванням фосфованілінового реактиву (Knight et al., 1972). Визначення жирнокислотного профілю проводили методом газової хроматографії (Kates, 1973; Байдалинова и др., 1977). Вміст загального білка оцінювали за методом Лоурі (Lowry et al., 1951). Ідентифікацію амінокислот проводили методом іонообмінної рідинно-колонної хроматографії (Козаренко, 1975). Кількісний вміст сумарних каротиноїдів визначали згідно з методикою (Продукты пищевые..., 2011), їх фракційний склад встановлювали методом тонкошарової хроматографії (Чечета и др., 2008). Зольність зразків визначали після їх спалювання при 550°C (Animal Feeding, 2002). Вміст металів у золі оцінювали методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії (C-115-M-1). Значення усіх показників перераховували на суху масу. Рівень сумарної ліпазної активності визначали за уніфікованим методом (Біохімія ензимів..., 2008). Загальну протеолітичну активність у зразках оцінювали при pH 4,8; 7,4 та 9,0 за модифікованим методом Ансона (Препараты ферментные..., 1988). Рівень амілолітичної активності визначали за методом Каравея (Caraway, 1959).

Для моделювання нітритного впливу були використані ізольовані еритроцити *Carassius auratus* (L.), *Cyprinus carpio* L., *Hypophthalmichthys molitrix* (Valenciennes), *Acipenser ruthenus* L. Забір крові здійснювали із серця з використанням гепарину як антикоагулянту. Еритроцити відділяли від плазми центрифугуванням при 500g і тричі промивали в розчині Рінгера. Концентрації NaNO_2 в середовищі інкубації еритроцитів були наступними: 7,25 ммоль/л (I група), 14,5 (II), 72,5 (III), 145,0 (IV) 217,5 ммоль/л (V група). Інкубацію проводили протягом 30 хв при температурі 20°C. Вміст гемоглобіну визначали гемоглобінціанідним методом. Вміст метгемоглобіну (% від загального гемоглобіну) оцінювали спектрофотометрично ацетон-ціангідріновим методом (Методические указания ..., 1999). Метгемоглобінредуктазну активність (мкмоль/хв. на 1 мг гемоглобіну) визначали за швидкістю відновлення метгемоглобіну в присутності NADH (Горячковский, 2005). Каталазну активність (ммоль/хв на 1 мг білка) оцінювали за швидкістю утилізації пероксиду водню в реакції з молібдатом амонію (Рахманова и др., 2009). Вміст відновленої аскорбінової кислоти (мкмоль на 1 мг гемоглобіну) визначали за різницею між вмістом всіх форм аскорбату і суми дегідроаскорбінової і дикетогулонової кислот (Горячковский, 2005). Рівень карбонілювання білків оцінювали з використанням 2,4-динітрофенілгідазину (Oliver C.N., 1987),

вміст білкових SH-груп – реагенту Елмана (Murphy M.E., 1989). Вміст ТБК-активних продуктів визначали за загальноприйнятою методикою (Андреева и др., 1988). Сумарну антиоксидантну активність еритроцитів оцінювали за здатністю пригнічувати Fe^{2+} -залежне ПОЛ в ліпопротеїнах жовтка *in vitro*. (Клебанов и др., 1988). Вміст відновленого глутатіону (ммоль на 1 мг білка) визначали в реакції з 5,5-дітіо-біс-(2-нітробензойною) кислотою (Рахманова и др., 2009). Особливості структури внутрішніх органів вивчали за гістологічними зрізами (Микодина и др., 2009) з використанням програмного забезпечення MICAM 2.0.

Статистичну обробку результатів досліджень проводили методом однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA з використанням програмного забезпечення Microsoft Excel та Statistica 10 (Халафян, 2007). Відмінності отриманих результатів вірогідні при рівні значимості $P \leq 0,05$ за критерієм Ст'юдента.

РОЗДІЛ 3. ХАРАКТЕРИСТИКА ІХТІОФАУНИ КАРПАТСЬКОГО РЕГІОНУ В КОНТЕКСТІ ЗАПРОВАДЖЕННЯ БІОТЕХНОЛОГІЙ ВІДТВОРЕННЯ АБОРИГЕННИХ ВИДІВ

За результатами власних спостережень та літературними даними іхтіофауна басейнів рік Дністер, Прут та Сірет в межах регіону досліджень представлена 78 видами з 19 родин, які об'єднані в 11 рядів (Khudiy, 2016). Таким чином, у водоймах регіону зосереджено 57% видів міног та риб, які зустрічаються у прісних водах України (Movchan, 2015), та близько 30% від загального видового різноманіття іхтіофауни країни. Частка раритетного компоненту в іхтіофауні Карпатського регіону складає більше 50% від загальної кількості присутніх тут видів (табл. 1).

Таблиця 1

Співвідношення видів риб, занесених до різних охоронних списків, у басейнах рік Українських Карпат та Передкарпаття

	Басейн ріки						Всі басейни	
	Дністер		Прут		Сірет			
	n	%	n	%	n	%	n	%
Червона книга України	15	22,1	12	21,8	7	20,6	19	24,4
IUCN	4	5,9	3	5,5	-	-	5	6,4
CITES	2	2,9	-	-	-	-	2	2,6
BC (Bern Convention)	24	35,3	21	38,2	15	44,1	32	41,0
Всього раритетних видів	32	47,1	26	47,3	18	52,9	40	51,3

n – абсолютна кількість видів, % – частка від кількості видів, наявних у межах басейну

Попри значне біорізноманіття обсяг рибних запасів навіть у найбільш продуктивних водоймах регіону вкрай низький (Худий та ін., 2010). Аналіз можливих причин такого стану не виявив критичних проблем із забрудненням водного середовища (Худий, Худа, 2009; Худий и др., 2010)

чи в паразитологічній ситуації (Гарматюк, Худий, 2012). Для представників переважної більшості аборигенних видів риб характерним є високий ступінь адаптованості до умов середовища (Худий, 2007; Худий, Корчак, 2008). Потенційна рибопродуктивність, розрахована за рівнем розвитку природної кормової бази, більше, ніж утрічі перевищує фактичну (Кружиліна та ін., 2010; Худий, Кушнірик, 2012). Враховуючи вище сказане, низький рівень рибних запасів у водоймах досліджуваного регіону спричинений порушенням процесів природного відтворення в популяціях переважної більшості видів риб. Одним з найбільш дієвих шляхів вирішення ситуації, що склалася, є здійснення штучного розмноження в умовах індустріальної аквакультури з подальшою реінтродукцією отриманої молоді у природні гідроекосистеми.

Найбільш доцільно роботи з підвищення рибопродуктивності водойм басейнів Дністра, Пруту та Сірету розпочати із зариблення отриманою в аквакультурі молоддю тих видів, які мають високий природоохоронний статус і значну господарську цінність. Окрім лососевих риб, зокрема форелі струмкової та лосося дунайського, штучне відтворення яких вже ведеться, до таких видів можна віднести стерлядь прісноводну верхньодністровської популяції, туводну форму вирезуба причорноморського та марену звичайну. Виходячи із розрахованої екологічної ємності досліджуваних гідроекосистем, загальна щорічна потреба у необхідному для зариблення природних водотоків рибопосадковому матеріалі складає 350 тис. екземплярів цьоголіток стерляді та 41 млн. – вирезуба для Дністра та Дністровського водосховища, а також 36,5 млн. екземплярів марени для всіх трьох басейнів.

РОЗДІЛ 4. РИБНИЦЬКО-ТЕХНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА РЕЦИРКУЛЯЦІЙНОЇ СИСТЕМИ В ЧЕРНІВЕЦЬКОМУ НАЦІОНАЛЬНОМУ УНІВЕРСИТЕТІ

Суворі екологічні обмеження, спрямовані на мінімізацію забруднень від рибоводних заводів і аквакультурних господарств в країнах Європи послужили стимулом до швидкого технологічного розвитку установок замкнутого водопостачання. Один з перспективних напрямків використання рециркуляційних рибоводних установок – природоохоронний, покликаний забезпечити утримання в неволі ремонтно-маточного поголів'я та одержання в результаті штучного відтворення молоді аборигенних видів риб задля подальшої реінтродукції у природні водойми.

Рециркуляційна система, спроектована та створена в Чернівецькому національному університеті імені Юрія Федьковича, призначена для проведення експериментальних досліджень по вдосконаленню існуючих та розробці нових біотехнологій розведення аборигенних видів риб. Установка змонтована на 57,8 м² виробничих площ. УЗВ включає 3 основних блоки: рибоводний блок (5 квадратних басейнів із скловолкна об'ємом по 2 м³ та площею 4 м²), блок очистки води та водопідготовки (3-секційний механічний фільтр з наповнювачем та відстійником загальним об'ємом

0,42 м³; біофільтр з регенеруючим плаваючим наповнювачем корисним об'ємом 0,42 м³; бактерицидна УФ-лампа потужністю 50 Вт; ємність для насичення киснем 0,7 м³; безнапірний оксигенатор; компенсаційна ємність об'ємом 1 м³) і машинний блок (водяна помпа потужністю 1,5 кВт, компресор – 0,6 кВт). Біофільтр УЗВ може забезпечити нітрифікацію 180 г амонійного Нітрогену за добу, що дозволяє утримувати до 220 кг риби. Значення хімічних показників якості води в усіх вузлах установки встановились в межах норм, допустимих для риборозведення (Худий та ін., 2014).

РОЗДІЛ 5. ХАРАКТЕРИСТИКА БІОТЕХНОЛОГІЇ ШТУЧНОГО ВІДТВОРЕННЯ СТЕРЛЯДІ ВЕРХНЬОДНІСТРОВСЬКОЇ ПОПУЛЯЦІЇ

Проведені власні багаторічні іхтіологічні дослідження дозволяють стверджувати, що одна з небагатьох природних туводних популяцій стерляді в Україні збереглася в системі верхній Дністер-Дністровське водосховище (Худий, 2014). Особлива цінність верхньодністровської популяції стерляді зумовлена тим, що у даній водній системі ніколи не проводилася інтродукція осетрових з використанням вирощеного на рибзаводах чужорідного іхтіологічного матеріалу. Це дозволило зберегти генетичну чистоту аборигенної популяції. Так, за результатами порівняльного аналізу з використанням мікросателітних ДНК-маркерів було показано, що верхньодністровська стерлядь генетично відрізняється від популяцій із сусідніх басейнових систем, зокрема Дніпра та Дунаю (Forr-Bayat et al., 2015).

З метою формування ремонтно-маточного стада в прилеглий до вершини Дністровського водосховища ділянці річки було виловлено плідників стерляді. Утримання виловлених з природи особин в УЗВ дозволило відпрацювати та вдосконалити основні ланки технологічного процесу вирощування аборигенних риб, починаючи від процедури доместикації та закінчуючи реінтродукцією отриманого зарибку та формуванням ремонтно-маточного стада з вирощених вже в неволі особин.

В умовах УЗВ 12,5% самок дністровської стерляді вперше досягли статевої зрілості у віці 3 роки, тоді як в природі – у 6–7 років. Ефективність запліднення ікри вперше нерестуючих самок склала близько 50%, повторно – до 90%.

За період підрощування спостерігалось два піки втрат (рис. 1): перший – найвищий, до переходу на екзогенне живлення, причиною якого стали вади розвитку личинок. Другий пік втрат зумовлений

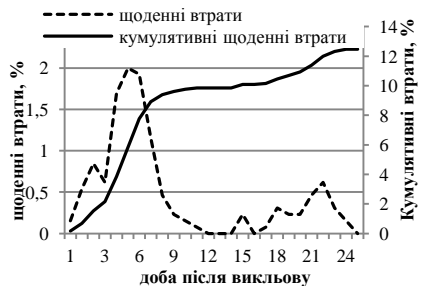


Рис. 1. Динаміка втрат личинок дністровської стерляді, отриманих від виловлених з природи плідників

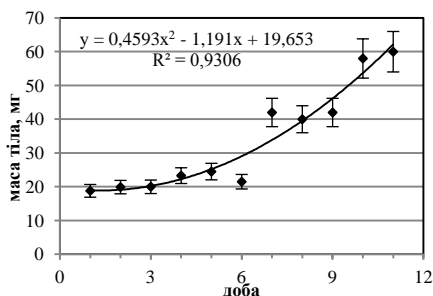


Рис. 2. Динаміка масонакопичення личинок дністровської стерляді в УЗВ

загибеллю від голоду особин, що не змогли перейти на штучний корм, яким повністю замінили артемію з 16-ї доби від початку годівлі. Личинки дністровської стерляді характеризуються високими темпами росту. Середньодобовий приріст маси тіла личинок у першу декаду досяг 3,8 мг, що склало 20,5% від початкової маси (рис. 2).

Процедура введення в аквакультуру нових видів чи представників окремих популяцій може супроводжуватись проблемою поганої засвоюваності вже розроблених кормів або, навіть, повною відмовою від них. Проведені дослідження з вивчення можливості використання продукційних гранульованих кормів провідних європейських виробників у технології вирощування дністровської стерляді показали позитивний результат – цьоголітки активно набирали масу, середньодобовий приріст особин при цьому складав від 1,0 до 1,9%. Використання гранульованих кормів забезпечує формування високої харчової цінності м'яса дністровської стерляді. Вміст загального протеїну в м'язовій тканині в перерахунку на сухий залишок досягає 72%, загальних ліпідів – 15% при низькому вмісті холестеролу (рис. 3).

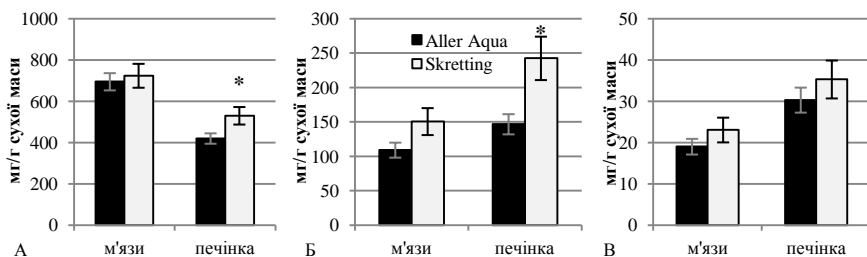


Рис. 3. Вміст загальних білків (А), ліпідів (Б) та холестеролу (В) в цьоголіток дністровської стерляді в умовах рибоводної рециркуляційної системи

У складі ліпідів м'язової тканини стерляді ідентифіковано 29 жирних кислот. Серед насичених жирних кислот (НЖК) зафіксовано наявність тринадцяти. Домінує пальмітинова кислота (17,4–21,8 % від загальної кількості всіх жирних кислот). Варто зазначити, що спектр насичених жирних кислот в м'язах досліджуваних риб починається з C 11:0 (ундецилової) кислоти, тоді як іншими авторами в ліпідах стерляді вона не зафіксована, а жирнокислотний ряд розпочинається з C14:0 (Lee at al., 2012; Ljubojevic at al., 2013). Частка мононенасичених жирних кислот (МНЖК)

найвища (табл. 2) за рахунок олеїнової (26,3–34,5%) та пальмітоолеїнової кислот (5,9–9,3%). Поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК) в м'язах стерляді основним чином представлені ейкозапентаєновою (6,5–7,6%), лінолевою (11,0–12,3%) та докозагексаєновою (6,4%) кислотами. Такий жирнокислотний профіль свідчить про високу харчову цінність м'яса дністровської стерляді і робить її перспективним об'єктом комерційної аквакультури.

Одним із напрямків вдосконалення біотехнології розведення осетрових риб є використання речовин, що прискорюють ростові процеси. Введення γ -котонолактон-вмісного препарату ДОН-1R в дозі 150 мкл на 1 кг корму забезпечує півтораразове підвищення темпів масонакопичення у стерляді, дворазове – в сибірського осетра (Худый и др., 2015). Найбільш виражено стимулюючий ефект препарату спостерігається при його застосуванні з кормами нижчої якості (рис. 4). Зростання рівня біохімічних маркерів функціонального стану печінки та незначні гісто-патологічні зміни її структури є свідченням реактивних змін в даному органі, які, проте, мають зворотний характер. Враховуючи це, препарат ДОН-1R як стимулятор росту доцільно використовувати лише протягом нетривалого періоду. Встановлено, що оптимальний термін його застосування складає 20 діб.

Актуальною проблемою в технології виробництва кормів для риб є пошук сировини з достатнім вмістом есенціальних мікроелементів. Введення базальтового туфу з родовища «Полицьке 2» в рибний корм в процесі гранулювання у кількості 4% за масою забезпечило підвищення концентрації Мангану та Купруму в крові осетрових риб (рис. 5), що дозволяє розглядати даний мінерал як джерело мікроелементів при виготовленні кормів.

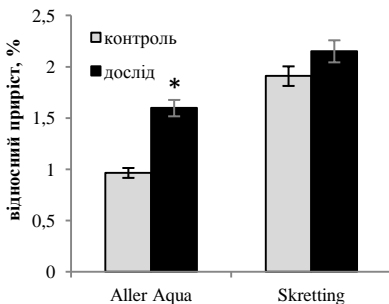


Рис. 4. Вплив ДОН-1R на відносний середньодобовий приріст маси цьоголіток стерляді

Таблиця 2
Жирнокислотний профіль м'язів дністровської стерляді, %

Жирні кислоти	Корм	
	Aller Aqua	Skretting
Σ НЖК	22,73 \pm 2,12	32,51 \pm 2,98
Σ МНЖК	43,27 \pm 3,51	38,82 \pm 3,06
Σ ПНЖК	29,07 \pm 3,01	27,45 \pm 2,91
Σ ω -3	15,44 \pm 1,81	15,27 \pm 1,71
Σ ω -6	13,63 \pm 1,52	12,13 \pm 1,33

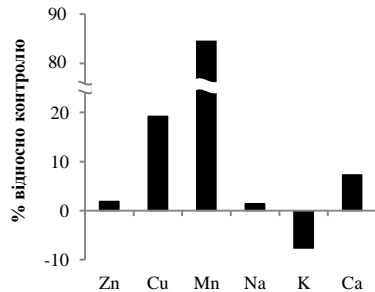


Рис. 5. Зміна вмісту металів у цільній крові сибірського осетра при вигодовуванні кормами з туфом

РОЗДІЛ 6. БІОТЕХНОЛОГІЯ ЖИВИХ КОРМІВ В УМОВАХ ІНТЕНСИВНОЇ АКВАКУЛЬТУРИ

Концепція функціональних кормів передбачає введення в основний раціон добавок, які задовольняють підвищені потреби організму відповідно до віку, фізіологічного стану, сезону, тощо. Особливо вибагливими щодо якості корму є особини на ранніх стадіях розвитку, зокрема личинковій. Якщо при виготовленні штучних гранульованих кормів введення добавок не складає проблеми, то при використанні живих кормів вони повинні бути інкапсульовані в кормовий організм. Тим самим можна забезпечити корекцію нутрієнтного складу живого корму.

Традиційно як стартовий корм в ларвакультурі використовують науплій артемії, для яких часто характерний невисокий вміст ω -3 поліненасичених жирних кислот, зокрема ейкозапентаєнної та докозагексаєнної (Navarro, Sargent, 1992). Дефіцит зазначених сполук в раціоні личинок риб призводить до зниження темпів росту, появи аномалій процесів розвитку та, відповідно, підвищення смертності (Cahu et al., 2003; Lee et al., 2018). Проведення процедури біоінкапсуляції дозволило істотно підвищити частку докозагексаєнної та ейкозапентаєнної кислот у жирнокислотному профілі науплій (табл. 3).

Таблиця 3

Частка ейкозапентаєнної та докозагексаєнної кислот у жирнокислотному профілі науплій артемії, %

Жирна кислота	Препарат жирних кислот	Артемія до збагачення	Артемія після збагачення різними дозами препарату	
			0,6 г/л	1,2 г/л
Ейкозапентаєнова	7,3 \pm 0,6	3,2 \pm 0,2	3,7 \pm 0,3	5,2 \pm 0,6*
Докозагексаєнова	17,6 \pm 1,1	0,1 \pm 0,01	1,3 \pm 0,1*	6,5 \pm 0,3*

* Тут і надалі різниця достовірна при $p \leq 0,05$

При розробці технології біоінкапсуляції необхідно контролювати не лише ефективність накопичення цільового продукту, а й виживаність кормових організмів під час даної процедури, їх нутрієнтний склад, а також враховувати можливість появи небажаних дериватів. Так, за умов інтенсивної аерації середовища, наявність великої кількості легкоокиснюваних ПНЖК провокує вільнорадикальні процеси в кормових організмах, про що свідчить накопичення в них ТБК-активних продуктів (рис. 6). Це, з одного боку, викликає підвищення

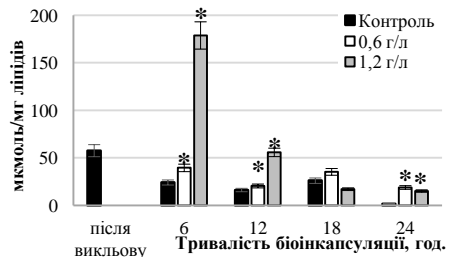


Рис. 6. Вміст ТБК-активних продуктів у наупліях артемії при біоінкапсуляції різними дозами препарату ПНЖК

Таблиця 4

Динаміка загальної протеолітичної активності при різних рН у артемії в процесі біоінкапсуляції ПНЖК-вмісним препаратом, нмоль Туг/хв×мг білка

	Після вилуплення	Тривалість біоінкапсуляції, години			
		6	12	18	24
рН 4,8	0,63±0,08	0,77±0,08	0,44±0,06	1,14±0,18*	0,93±0,09*
рН 7,4	2,51±0,37	3,09±0,34	9,04±0,78*	25,03±3,01*	17,02±1,85*
рН 9,0	6,53±0,57	5,74±0,56	894,22±90,3*	1051,8±112,5*	1102,8±150,7*

смертності науплій, а з іншого – робить їх непридатними для використання як стартового корму. Апробація різних схем, що відрізнялись дозою препарату, кратністю його внесення та тривалістю насичення дозволила розробити оптимальний режим біоінкапсуляції поліненасичених жирних кислот в артемію, який передбачає одноразове внесення ПНЖК-вмісного препарату в дозі 0,6 г/л інкубаційного середовища. Рівень смертності науплій при такому режимі складає лише 10% при максимальному збереженні їх поживної цінності (Khudiyi et al., 2017) та мінімальному рівні накопичення продуктів ПОЛ. Слід зауважити, що застосована схема насичення живого корму ПНЖК не пригнічує протеолітичну активність в науплій (табл. 4).

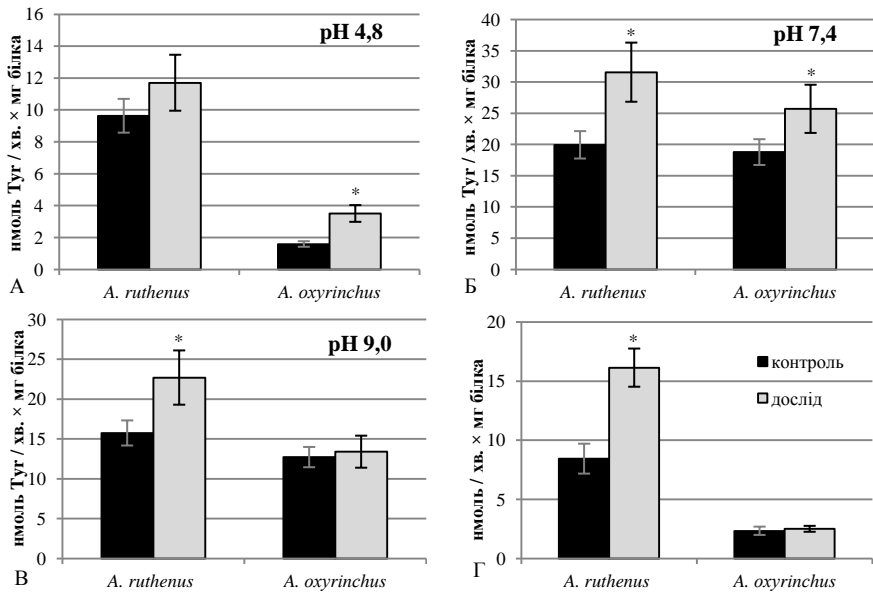


Рис. 7. Загальна протеолітична (А–В) та ліполітична (Г) активність у личинок осетрових риб при 14-денному вигодовуванні насиченою ПНЖК артемією

Це важливо, оскільки, протейнази кормових організмів забезпечують не лише їх автоліз в травному тракті, але й первинну активацію зимогенів

травних ферментів личинок риб. Застосування кормових організмів з високим рівнем гідролітичної активності позитивно впливає на ензиматичний фон травного тракту личинок риб на початкових етапах розвитку (рис. 7). Окрім того, відомо, що докозагексаєнова кислота та її похідні модулюють у риб панкреатичну секреторну активність та активність ентероцитів (Lund et al., 2018). Висока гідролітична активність в травному тракті личинок риб дозволяє їм ефективніше засвоювати поживні речовини, які надходять з кормами, що у свою чергу позитивно відображається на виживаності ранньої молоді та інтенсивності ростових процесів. Вигодовування збагаченою артемією личинок стерляді дозволило удвічі скоротити рівень їх смертності (Худа та ін., 2015).

При великих обсягах отримання рибопосадкового матеріалу, зазвичай, використовуються автоматичні годівниці (так звані автофідери), що цілодобово забезпечують дозовану подачу кормових організмів личинкам вирощуваних риб. Протягом тривалого перебування в автофідерах, внаслідок голодування, частина науплій гине, а в тих, що вижили, знижується поживна цінність. Для попередження нутрієнтної депривації доцільним є сумісне утримання науплій артемії та їх кормових об'єктів – дріжджів, мікроводоростей, або біоінкапсуляція препаратами, виготовленими на їх основі. Додавання дріжджового препарату NuPro та альгопрепарату Algamac у культиватійне середовище стабілізує вміст загальних білків у науплій (рис. 8).

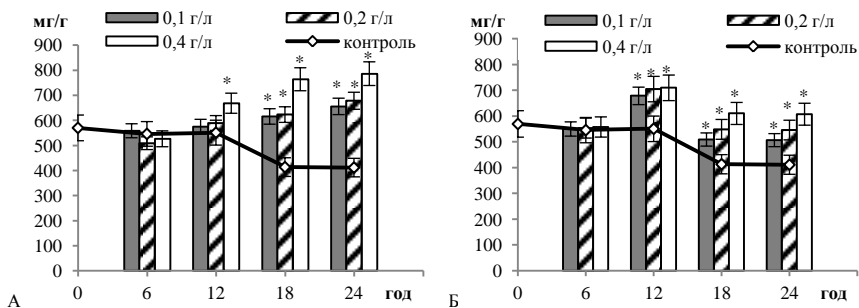


Рис. 8. Динаміка вмісту загальних протеїнів в організмі науплій артемії за дії різних концентрацій препаратів NuPro (А) та AlgaMac Protein Plus (Б)

Важливою характеристикою корму є не лише вміст протеїну, але й співвідношення окремих амінокислот у кормовому протеїні. За час голодування при перебуванні в кормобоксах надходження екзогенного білку та, відповідно, незамінних амінокислот в організм артемії припиняється, що супроводжується поступовим виснаженням їх пулу внаслідок активного використання в метаболічних процесах, пов'язаних з підтримкою життєдіяльності самих науплій. Недостатня кількість незамінних амінокислот в раціоні личинок риб негативно відображається на

ефективності процесу їх вирощування. Аналіз амінокислотного профілю досліджуваних груп артемії показав, що, загалом, застосування препаратів на основі біомаси дріжджів та водоростей забезпечує підтримку кількісного розподілу амінокислот на рівні, притаманному наупліям одразу після вилуплення, тобто, в період їх найбільшої поживної цінності (рис. 9).

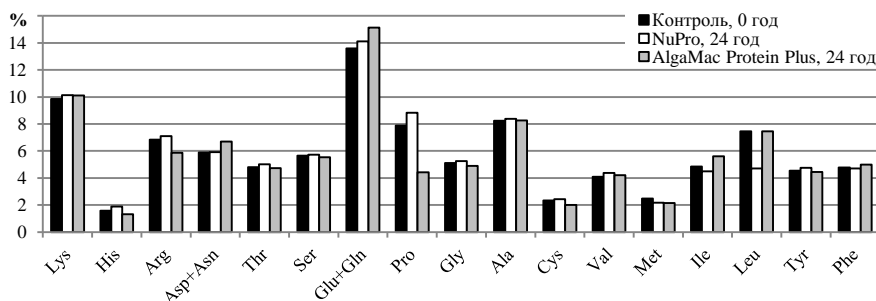


Рис. 9. Амінокислотний профіль науплій артемії

Натомість, з огляду на показники смертності, не всі концентрації досліджуваних препаратів дають позитивний ефект. Надто високі дози препаратів викликають на термінальних етапах підвищення смертності артемії внаслідок псування середовища в автоматичних фідерах (рис. 10).

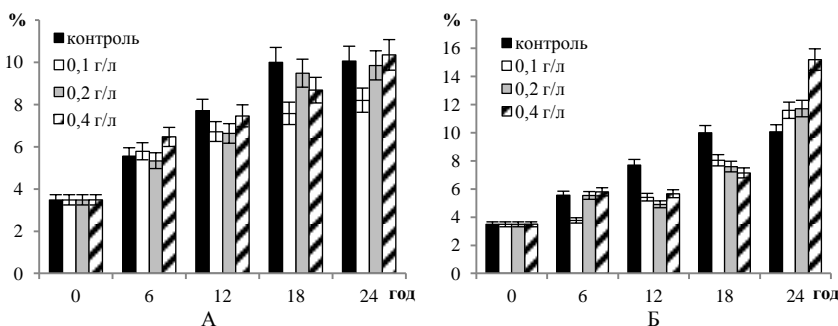


Рис. 10. Вплив різних концентрацій препаратів NuPro (А) та AlgaMac Protein Plus (Б) на динаміку індексу кумулятивної смертності науплій артемії

У біотехнології гідробіонтів набувають популярності так звані GWT-технології (green water technology). Альголізація середовища позитивно впливає на виживаність та темпи росту водних організмів на ранніх стадіях розвитку (Chithambaran et al., 2017). Зокрема, показано, що внесення живої культури зеленої водорості *Desmodesmus armatus* в автогодівниці до науплій артемії не лише позитивно впливає на виживаність самої артемії (Khudiyi et al., 2018), але й достовірно пришвидшує темпи росту личинок європейського сома до переведення їх на гранульовані корми (рис. 11).

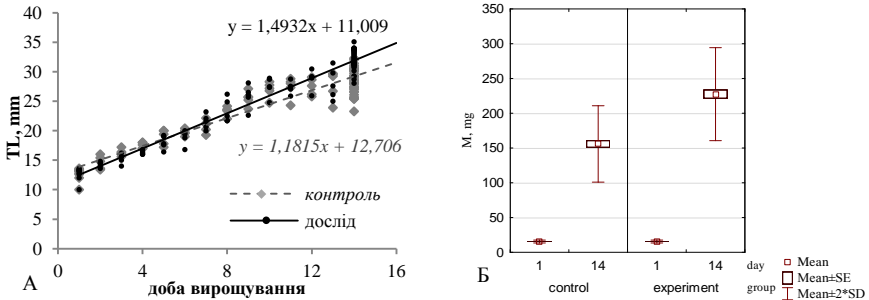


Рис. 11. Зміна загальної довжини (А) та маси тіла (Б) личинок європейського сома за умов альголізації середовища науплій артемії культурою *D. armatus*

Окрім солоноводної артемії, перспективним є використання як стартового живого корму прісноводних організмів. Для здешевлення технології нарощення їх біомаси запропоновано застосування оборотної води з УЗВ, в яку надходить значна кількість біогенних елементів, що виділяються в процесі метаболізму риби (Giani, 1991). Окрім того, при вирощуванні риби за інтенсивними технологіями в УЗВ використовують збалансовані корми, які містять повний спектр необхідних для нормального функціонування організму риби мікроелементів, певна кількість яких вививається з кормів у воду.

Оскільки в УЗВ риба вирощується в умовах ущільненої посадки, концентрація біогенів та мікроелементів в оборотній воді, яка надходить у блок очистки із рибоводних ємностей, може бути достатньо високою, що робить можливим використання такої води для культивування мікробіодоростей (рис. 12 А).

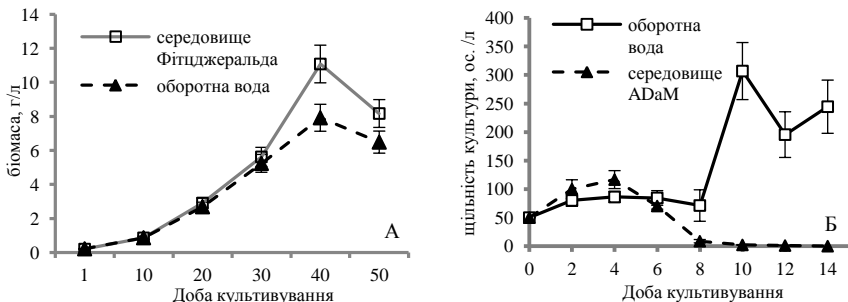


Рис. 12. Кількісні показники розвитку культур прісноводного фіто- та зоопланктону на оборотній воді з УЗВ на прикладі *Desmodesmus armatus* (А) та *Simocephalus vetulus* (Б)

З іншого боку, концентрація розчинних форм Нітрогену в оборотній воді не досягає критичних значень для розвитку зоопланктону, а наявність завислих речовин сприяє наростанню щільності культури (рис. 12 Б).

Використання оборотної води не призводить до погіршення поживної цінності кормових організмів, а тому може вважатися ефективним середовищем для культивування прісноводного фіто- та зоопланктону.

Додаткове підвищення темпів нарощення біомаси кормових організмів може бути досягнуто використанням препаратів із стимулюючим ефектом. Так, застосування γ -кротонолактон-вмісного препарату ДОН-1R у найменшій із досліджуваних концентрацій позитивно впливає на динаміку накопичувальної культури прісноводного зоопланктону (рис. 13), не знижуючи нутрієнтної цінності кормових організмів.

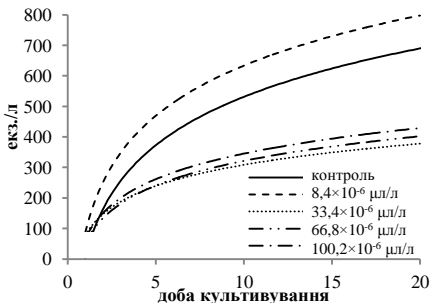


Рис. 13. Динаміка щільності культури *S. vetulus* за різних концентрацій ДОН-1R

На відміну від артемії, прісноводний зоопланктон зазвичай бідний на каротиноїди. Вигодовування каротинсинтезуючими дріжджами роду *Rhodotorula* F.C.Harrison, 1927 гіллястовусих ракоподібних дозволяє підвищити в них вміст загальних каротиноїдів вже на 4 добу культивування (рис. 14). При цьому використання *R. glutinis* забезпечує вищий рівень акумуляції каротиноїдів у живому кормі. У фракційному складі каротиноїдів кормових організмів, культивованих з використанням каротиногенних дріжджів переважають ксантофіли, а саме астаксантин та його моноестери (рис. 15).



Рис. 14. Динаміка накопичення каротиноїдів культурою *M. macrocopa* при застосуванні дріжджів *Rhodotorula*

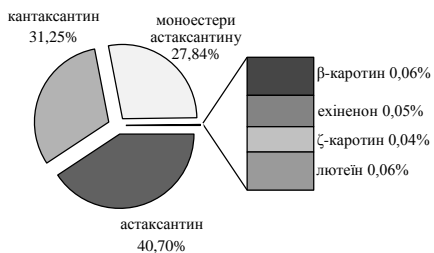


Рис. 15. Частка окремих фракцій каротиноїдів у *Moina macrocopa* після культивування на *R. glutinis*

Зважаючи на антиоксидантні властивості каротиноїдів, особливо астаксантину, закономірним є те, що їх накопичення супроводжується підвищенням антиоксидантної активності у кормових організмів (рис. 16). Також позитивним є те, що родоторули виступають як джерело не лише каротиноїдів, але й основних груп поживних речовин, що дозволяє

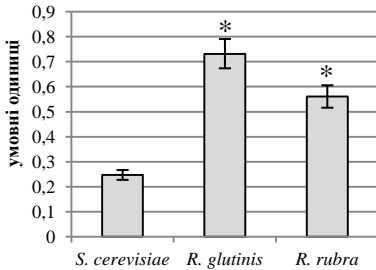


Рис. 16. Рівень антиоксидантної активності *Moina macroscopa* при культивуванні з родоторулами

β -метилбутират, стимулюють ростові процеси і позитивно впливають на стан імунної системи у риб (Siwicki et al., 2003).

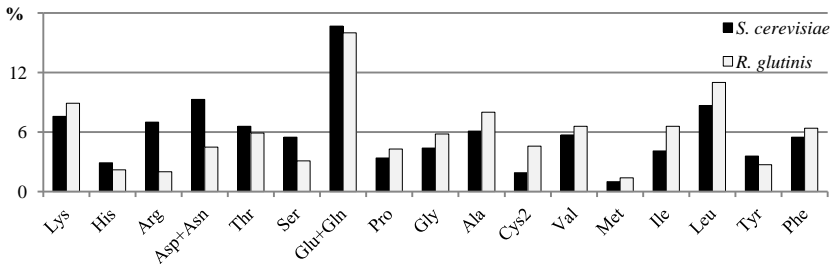


Рис. 17. Амінокислотний профіль *Moina macroscopa* при культивуванні на різних видах дріжджів

Відомо, що родоторули, зокрема *Rhodotorula glutinis*, є продуцентом інгібітора карбоксипептидаз (Hernández-Jodra, Gancedo, 1979), що пояснює пригнічення загальної протеазної активності у кормовому зоопланктоні, культивованому на даних дріжджах (рис. 18). Це, у свою чергу, може негативно вплинути на ензиматичний фон травного тракту личинок риб та, відповідно, призвести до погіршення засвоюваності ними кормів. Виходом з такої ситуації є використання дріжджів роду *Rhodotorula* сумісно з молочнокислими бактеріями роду *Lactobacillus*, які продукують екстрацелюлярні гідролітичні ензими (Ikram-ul-Haq, Mukhtar, 2007).

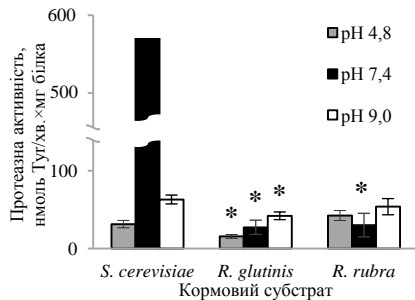


Рис. 18. Загальна протеазної активності у *Moina macroscopa* при використанні різних кормових субстратів

Стимулювання каротиногенезу у родоторул, у тому числі внаслідок опромінення ультрафіолетом, супроводжується пригніченням темпів накопичення біомаси (Краєвська, Васіна, 2017). Кокультивування *R. glutinis* з лактобацилами забезпечило покращення динаміки наростання як нативної, так і опроміненої культур родоторули, а також посилення каротиногенезу, зокрема за рахунок β -каротину, торулародину та торуліну (рис. 19).

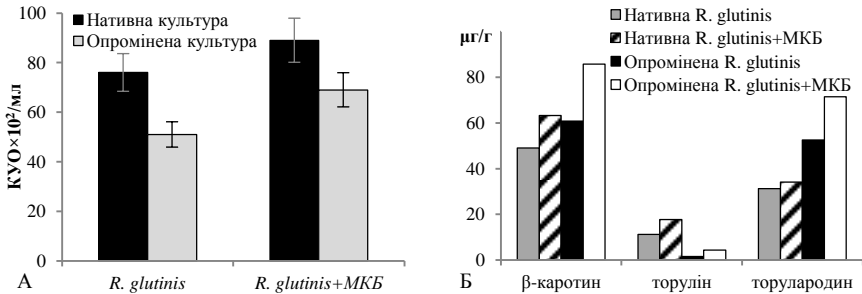


Рис. 19. Кількісна характеристика розвитку нативної та опроміненої культур *R. glutinis* при кокультивуванні з молочнокислими бактеріями (А) та вміст окремих каротиноїдних фракцій у них (Б)

З іншого боку, позитивний ефект від формування асоціацій даних мікроорганізмів обумовлений пробіотичними властивостями молочнокислих бактерій (Hoseinifar et al., 2016). Так, введення в корми лактобактерій в кінцевому результаті позитивно вплинуло на ростові процеси в личинок риб (табл. 5). При цьому спостерігається пригнічення небажаної мікрофлори як в організмі риб, так і в воді, де вони вирощуються (рис. 20).

Таблиця 5

Ростові характеристики личинок коропа при введенні в корм *Lactobacillus casei*

	контроль	дослід
Початкова маса тіла, мг	3,1±0,4	3,1±0,4
Кінцева маса тіла, мг	83,2±0,9	93,4±0,9
Відносний приріст, %/доба	25,54±1,9	26,42±2,0

Серед лімітуючих факторів у культивуванні водних організмів є накопичення в середовищі як кінцевих метаболітів амоній-іону та продуктів його окислення. Якщо в УЗВ їх утилізація відбувається в біофільтрі, то при періодичному культивуванні кормового зоопланктону дана проблема зазвичай вирішується частковою або повною заміною середовища. Застосування речовин із високими адсорбційними властивостями, таких як базальтові туфи, може мати пролонгуючий ефект при використанні середовищ, що забезпечує зниження собівартості живих кормів. Проте відомо, що дані мінерали з різних родовищ можуть містити токсичні речовини, такі як сполуки міді, свинцю та інші. Це вимагає проведення

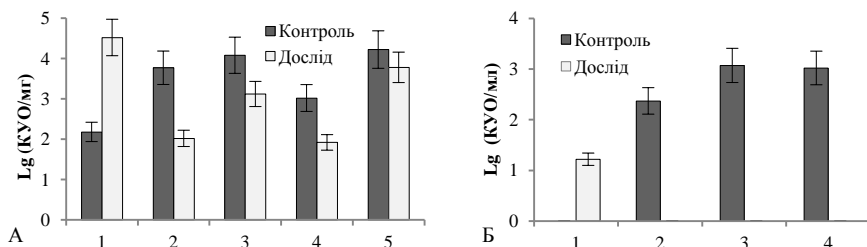


Рис. 20. Вплив *Lactobacillus casei* на мікрофлору личинок коропа (А) та води (Б):

1-лактобацили; 2-стафілококи; 3-стрептококи; 4-мікроскопічні гриби; 5-коліморфні бактерії

відповідних досліджень із визначення можливості застосування туфів із кожного конкретного родовища. Встановлено, що використання базальтового туфу родовища «Полицьке 2» забезпечує підвищення інтенсивності нарощення культури *M. macroscopa*. Максимальна щільність культур, які вирощували із використанням нативного туфу в усіх досліджуваних концентраціях, була у 2 рази вищою за контроль (рис. 21А). Даний ефект можна пояснити високими адсорбтивними властивостями туфу, який ефективно поглинає з води розчинні форми Нітрогену, що накопичуються в процесі життєдіяльності гідробіонтів (рис. 21 В–Г).

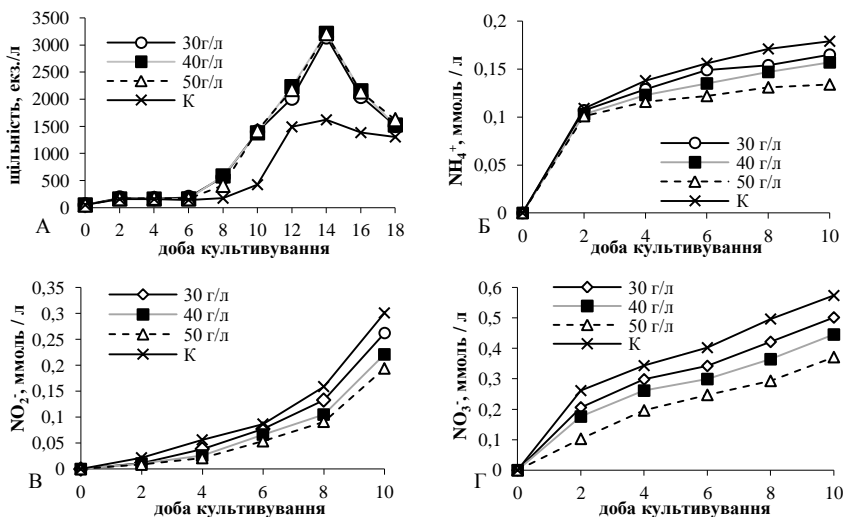


Рис. 21. Динаміка щільності монокультур *M. macroscopa* (А) та концентрацій амоній- (Б), нітрит- (В) і нітрат- (Г) іонів за дії різних концентрацій базальтового туфу з родовища «Полицьке 2»

Відомо, що термічна обробка істотно впливає на фізико-механічні властивості туфів, які визначають їх сорбційні властивості (Цимбалюк, 2014). Так, при активації туфів при температурах від 150°C спостерігається

збільшення питомої поверхні внаслідок випаровування з пор мікрокапілярної та зв'язаної води, крім того з'являються додаткові мікротріщини. Культивування зоопланктону в присутності термічно активованого туфу порівняно із нативним забезпечило збільшення на 13% максимальної щільності культури. Однак, прожарений за температури 1000°C туф спричиняв негативний вплив на ріст культур кормового зоопланктону. Імовірним поясненням цього факту є те, що при такій високій температурі відбувається „спікання” поверхні мінералу, що призводить до зменшення розмірів пор. Як наслідок, адсорбтивні властивості погіршуються. Окрім того, при температурах більше 500°C може проходити піроліз окремих солей з утворенням токсичних сполук, які в подальшому надходять у культиваційне середовище. Відповідно, використання прожарених туфів при культивуванні водних організмів є недоцільним. З іншого боку, застосування активованих при 150°C туфів хоч і дає кращі результати при культивуванні водних безхребетних, проте отриманий позитивний ефект не перекиває енергетичні затрати на процес активації.

Враховуючи результати проведених досліджень з очищення води від розчинних форм Нітрогену, нативний базальтовий туф із родовища «Полицьке 2» можна рекомендувати до застосування для тонкої очистки води в рибоводних установках замкнутого водопостачання, а також при періодичному культивуванні кормового зоопланктону.

Окрім адсорбтивних, базальтові туфи володіють й іонообмінними властивостями. Це, відповідно, впливає на мінеральний склад організмів, яких культивують у присутності зазначених мінералів. Так, при утриманні монокультури *M. macroscopa* при різних концентраціях туфу спостерігали 10-ти кратне збільшення вмісту Мангану в тілі ракоподібних.

Розділ 7. ФУНКЦІОНУВАННЯ СИСТЕМИ ВІДНОВЛЕННЯ МЕТГЕМОГЛОБІНУ В ЕРИТРОЦИТАХ РИБ ЗА УМОВ НІТРИТНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

Серед основних факторів якості води в установках замкнутого водопостачання особливої уваги і постійного моніторингу вимагають азотні показники. Надходження сполук Нітрогену у водне середовище частково зумовлено життєдіяльністю самих об'єктів аквакультури, адже основним продуктом білкового метаболізму у риб є амоній. Крім того, вирощування риби в УЗВ відбувається при використанні високобілкових кормів, які є додатковими джерелами Нітрогену у водному середовищі.

Ефективним засобом контролю за вмістом високотоксичних для риб амонію і нітритів є відрегульована робота біофільтрів, у яких відбувається двостадійний процес нітрифікації: на першому етапі за участю бактерій роду *Nitrosomonas* відбувається конверсія амонію в нітрити, які в подальшому окислюються в нітрати завдяки роботі іншої групи бактерій – *Nitrobacter* (Timmons, Ebeling, 2007). Оскільки перша стадія окислення амонію в нітрит має значно більший енергетичний вихід, ніж окислення нітриту в нітрат, мікрофлора, що здійснює першу стадію нітрифікації, росте

набагато швидше. Таким чином, виникає можливість накопичення в середовищі нітритів, що особливо часто виникає в перші 4–8 тижнів при стартовому запуску біофільтрів. Крім того, розбалансування процесів нітрифікації з подальшою можливістю амонійно-нітритної інтоксикації риб, може відбуватися навіть при незначній нестачі кисню, особливо при підвищеній щільності посадки в УЗВ (Svobodová et al., 2005). Основним проявом нітритної інтоксикації є посилене формування в еритроцитах метгемоглобіну (MtHb), що зумовлює розвиток гемічної гіпоксії (Raja, Sarkar, 2011). Гемоглобін риб характеризується низькою стійкістю до окислення, тому навіть у фізіологічних умовах рівень MtHb у них може варіювати в широких межах (Солдатов, 2002).

Проведені дослідження показали, що інкубація еритроцитів в середовищі зі зростаючими концентраціями NaNO_2 у стерильді призводить до збільшення вмісту метгемоглобіну в порівнянні з контрольними значеннями (рис. 22 А). Підвищений вміст метгемоглобіну відзначали в еритроцитах всіх дослідних груп. Однак найбільш істотне накопичення MtHb відбувалося в еритроцитах, які інкубували при концентраціях нітритів, близьких до напівлетальних (II і III групи) – його частка становила ~ 50% загального гемоглобіну. Використання більш високих концентрацій нітритів (145 і 217,5 ммоль / л) супроводжувалося зниженням вмісту метгемоглобіну, показники якого, однак, перевищували контрольні значення в 2,6 і 2,8 рази відповідно.

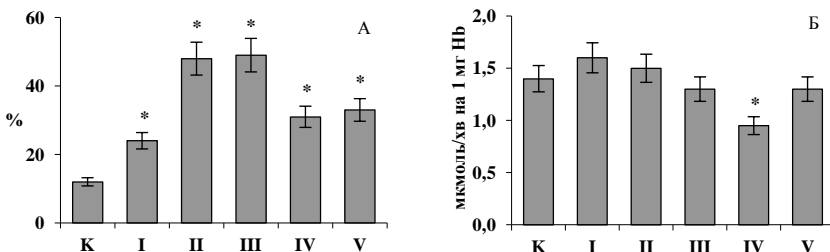


Рис. 22. Вміст метгемоглобіну (А) та метгемоглобінредуктазна активність (Б) в еритроцитах стерильді при дії різних концентрацій NaNO_2

Примітка (тут і далі): К – контроль, I – 7,25 ммоль / л NaNO_2 , II – 14,5 ммоль / л, III – 72,5 ммоль / л, IV – 145,0 ммоль / л, V – 217,5 ммоль / л

Відсутність при цьому видимих ознак інтоксикації пояснюється ефективним функціонуванням багатокомпонентної метгемоглобінредуктазної системи. Неферментативне відновлення метгемоглобіну відбувається за участю глутатіону і аскорбінової кислоти (Проданчук, Балан, 2007). Однак, основним фактором, який контролює рівень оксигенації-дезоксигенації гемоглобіну у всіх хребетних тварин, в тому числі і у риб, за фізіологічно нормальних умов, є функціонування ферменту NADH-залежної метгемоглобінредуктази (NADH-Н-цитохром b_5 -редуктаза,

КФ 1.6.2.2.), який забезпечує трансформацію 70-90% МтНб назад в гемоглобін (Saleh, McConkey, 2012). Результати досліджень, однак, не вказують на активну реакцію даного ферменту еритроцитів стерляді на підвищений вміст МтНб – метгемоглобінредуктазна активність в чотирьох дослідних групах достовірно не відрізняється від контрольних значень, тільки при дії 145 ммоль / л NaNO_2 – пригнічена (рис. 22 Б). Зниження рівня метгемоглобінредуктазної активності в усіх варіантах використаних токсичних концентрацій нітритів відзначено нами і в еритроцитах карася сріблястого (Худа та ін., 2012).

Взаємодія нітритів з іоном заліза гема гемоглобіну дозволяє припустити можливість подібних взаємодій і з іншими гем-вмісними протеїнами, зокрема каталазою, цитохромом b_5 в складі метгемоглобінредуктази. Непрямим підтвердженням припущення про інгібіторну дію нітрит-іонів на метгемоглобінредуктазний комплекс внаслідок зміни ступеня окислення іона заліза гема служать результати досліджень каталазної активності еритроцитів риб. В еритроцитах стерляді чітко спостерігається пригнічення каталазної активності при дії навіть найменших серед досліджуваних концентрацій нітритів (рис. 19А). Нітрит-аніони (при концентраціях від 10^{-3}M і вище) можуть взаємодіяти з залізом гема в активному центрі каталази і пригнічувати тим самим активність ферменту (Маєвська та ін., 2004).

В еритроцитах функціонування системи відновлення метгемоглобіну тісно пов'язане з роботою антиоксидантної системи. З одного боку, накопичення МтНб викликає вивільнення супероксид-аніону, який провокує утворення H_2O_2 , здатного до відновлення з утворенням гідроксильного радикала OH^\cdot . З іншого - іони Fe^{2+} , що вивільняються при утворенні великої кількості МтНб, виступають в ролі ініціаторів вільнорадикальних процесів. Нами показано, що дія досліджуваних концентрацій NaNO_2 призводить до інтенсифікації окислювальних процесів в еритроцитах риб і накопичення продуктів окисної модифікації ліпідів і протеїнів. Зокрема, встановлено, що достовірне порівняно з контролем зростання рівня ТБК-активних продуктів в еритроцитах коропових риб спостерігається вже з концентрації NaNO_2 на рівні 14,5 ммоль/л, тоді як рівень накопичення карбонільних похідних білків є достовірно вищим за контрольні значення при дії значно більших концентрацій нітритів (Khuda, Khudyi, 2013).

Поряд з можливістю прямого пошкодження білкових молекул високі концентрації нітритів здатні пригнічувати активність антиоксидантних ферментів, зокрема, супероксиддисмутази, пероксидази, каталази.

Результати проведених досліджень із визначення рівня загальної антиоксидантної активності показали, що максимальне зростання вказаного показника в еритроцитах риб спостерігається вже при застосуванні найменшої з досліджуваних концентрацій нітритів. Це свідчить про зростання здатності еритроцитів риб пригнічувати окислювальні процеси,

які, активуються при застосуванні ксенобіотиків, зокрема підвищених концентрацій нітрит-іонів.

Високий порівняно з контролем рівень загальної антиоксидантної активності на фоні незмінної або пригніченої активності антиоксидантних ферментів, який ми спостерігали на прикладі каталази (рис. 23 А), може забезпечуватись низькомолекулярними антиоксидантами, зокрема такими як відновлений глутатіон та аскорбінова кислота. Вважається, що низькомолекулярні антиоксиданти еволюційно з'явились раніше, ніж ферменти і тому в більш примітивних форм, зокрема в риб, відіграють провідну роль в антиоксидантному захисті (Martínez-Álvarez et al., 2005).

Вагомий внесок у формування антиоксидантного потенціалу еритроцитів належить глутатіону, редокс-система якого (GSH-GSSG) служить буфером, що захищає від деструктивної дії активних форм кисню.

Легке окислення сульфгідрильних груп відновленого глутатіону захищає SH-групи гемоглобіну і ряду білків і ферментів еритроцитів від вільнорадикального окислення. Таким чином, можливість прямого відновлення метгемоглобіну і антиоксидантні властивості GSH зумовлюють його помітну роль в системі підтримки структури і функцій гемоглобіну. Показано, що для еритроцитів риб характерна висока концентрація GSH. Співвідношення GSH/Hb у них значно вище, ніж у ссавців (Солдатов, 2002).

Результати проведених досліджень показали зниження рівня відновленого глутатіону в еритроцитах третьої і четвертої груп (на 42 і 58% відповідно), що вказує на його активну участь у відновленні метгемоглобіну при дії NaNO_2 в концентрації 72,5 і 145 ммоль/л (рис. 23 Б). Інкубація еритроцитів стерляді з нітритами в менших концентраціях (дві перші дослідні групи) супроводжувалася збільшенням вмісту GSH в порівнянні з контролем.

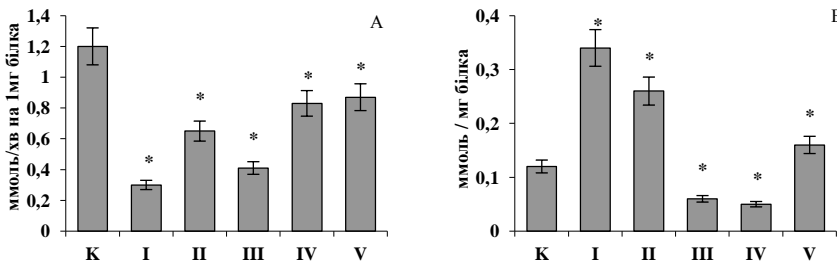


Рис. 23. Каталазна активність (А) та вміст відновленого глутатіону (Б) в еритроцитах стерляді при дії різних концентрацій NaNO_2

Таким чином, GSH динамічно реагує на зростання вмісту метгемоглобіну і ТБК-активних продуктів та активно використовується як відновлювальний агент при дії нітритів. З іншого боку, високі концентрації глутатіону в еритроцитах I і II груп можуть забезпечувати активну роботу

ще однієї редокс-системи – аскорбатної, оскільки відомо, що відновлення дегідроаскорбінової кислоти в аскорбінову відбувається досить швидко в присутності сульфгідрильних сполук, таких як глутатіон, цистеїн (Проданчук, Балан, 2007).

Для перевірки цього припущення, а також оцінки ролі аскорбінової кислоти в еритроцитах при нітритних інтоксикаціях нами було досліджено вміст відновленого аскорбату за вищевказаних умов. Отримані результати вказують на зменшення вмісту аскорбінової кислоти в еритроцитах стерляді за дії усіх досліджуваних концентрацій нітритів (рис. 24). Простежується чітке зниження рівня відновленого аскорбату при зростанні концентрації NaNO_2 в інкубаційному середовищі. Очевидно, це пов'язано з переходом відновленої аскорбінової кислоти в форму дегідроаскорбінової після відповідного використання в якості відновлювального агента і антиоксиданта. Як і глутатіон, аскорбінова кислота здійснює неензиматичне відновлення метгемоглобіну до гемоглобіну, забезпечуючи тим самим захист еритроцитів від токсичного впливу нітритів (Atyabi et al., 2012). Дана сполука широко використовується в якості терапевтичного агента при нітрит-індукованій метгемоглобінемії людини. У літературних джерелах зустрічаються суперечливі дані щодо активності L-Гулон- γ -лактоноксидази (останнього ензиму шляху біосинтезу аскорбінової кислоти з глюкози) у осетрових, в тому числі у стерляді. Однак, незважаючи на показану можливість синтезу аскорбату осетровими, необхідність введення в раціон додаткової кількості вітаміну С не заперечується.

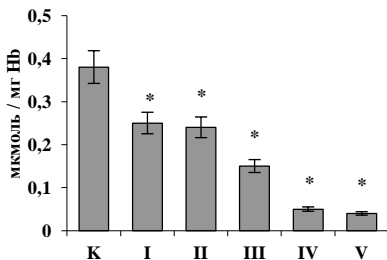


Рис. 24. Вміст відновленого аскорбату в еритроцитах стерляді при дії різних концентрацій NaNO_2

Таким чином, вирощування риб в УЗВ в умовах підвищеної щільності посадки при незадовільній роботі біофільтра може супроводжуватись накопиченням нітрит-іонів у воді. Акумуляція нітритів в еритроцитах супроводжується посиленням формування метгемоглобіну, максимальна частка якого в окремих видів може перевищувати 50%. Накопичення метгемоглобіну супроводжується підвищенням

вмісту продуктів окисної модифікації білків та пероксидного окислення ліпідів. Високі концентрації нітритів пригнічують роботу ензиматичних ланок відновлення метгемоглобіну та антиоксидантної системи, проте загальна антиоксидантна активність залишається підвищеною. Очевидно, за дії високих концентрацій нітритів пріоритетними у відновленні MtHb та у забезпеченні антиоксидантного захисту стають неензиматичні механізми за участю низькомолекулярних сполук, таких як відновлений глутатіон та аскорбат.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі розроблено та обґрунтовано застосування сучасних біотехнологічних підходів задля підвищення ефективності технології отримання рибопосадкового матеріалу аборигенних видів риб для подальшої реінтродукції у природні водойми Карпатського регіону.

1. Попри значне видове різноманіття іхтіофауни Карпатського регіону, яка за результатами проведених досліджень представлена 78 видами, більше 50 % з яких раритетні, фактична рибопродуктивність водойм регіону низька і не досягає 30% потенційної рибопродуктивності за рівнем розвитку природної кормової бази. Низький запас рибних ресурсів на фоні відповідної нормативним значенням якості води та високого розвитку трофічної бази свідчить про порушення процесів природного відтворення в популяціях більшості аборигенних видів риб.

2. Вперше розрахована екологічна ємність водойм регіону щодо обсягів зариблення – об'єм рибопосадкового матеріалу раритетних видів для басейнів Дністра, Пруту та Сірету складає 350 тис. екземплярів підрощеної молоді стерляді, 41 млн. – вирезуба та 36,5 млн. екземплярів марени на рік.

3. Сформоване стійке репродуктивне стадо дністровської стерляді з вилучених з природних умов особин та їх нащадків, отриманих в результаті штучного розмноження, дозволило вперше провести зариблення Дністра даним видом. В умовах установок замкнутого водопостачання 12,5% самок верхньодністровської стерляді вперше досягають статевих зрілості у трирічному віці, 23,5% – чотирирічному. Відносна робоча плодючість вперше нерестуючих трирічних особин склала 5,0 тис., чотирирічних – 9,9 тис. ікринок на 1 кг маси тіла.

4. Розроблені технологічні режими біоінкапсуляції каротиноїдів та поліненасичених жирних кислот у кормові організми дозволяють отримати живі корми з підвищеним вмістом астаксантину і його естерів, а також ейкозопентаєнової, докозогексаєнової та ліноленої жирних кислот. Застосування біотехнології корекції нутрієнтного складу живих кормів шляхом їх біоінкапсуляції есенціальними сполуками та мікрододатками дозволяє в 1,4 рази підвищити темпи приросту маси у личинок риб та скоротити їх смертність більше, ніж у два рази.

5. Встановлено, що спільне культивування каротинсинтезуючих дріжджів *Rhodotorula glutinis* та бактерій роду *Lactobacillus* сприяє накопиченню біомаси та каротиноїдів як у нативній, так і в опроміненій ультрафіолетом культурах – чисельність клітин дріжджів збільшується на 30 % порівняно із монокультурою, а вміст специфічних каротиноїдів – більше, ніж у двічі.

6. Використання скидної води як середовища при культивуванні фіто- та зоопланктону дозволяє істотно зменшити собівартість біомаси кормових організмів для забезпечення потреб аквакультури. Заміщення синтетичних

середовищ на скидну воду забезпечує інтенсивне наростання культур прісноводних гіллястовусих та не викликає зниження продуктивності альгокультур.

7. Вперше встановлено, що додавання в гранульовані корми γ -кротонолактонвмісного препарату ДОН-1R сприяє підвищенню темпів масонакопичення в осетрових риб. Найбільш виражено стимулюючий ефект препарату спостерігається при його застосуванні з кормами нижчої якості. Оптимальний термін застосування препарату складає 20 діб. Використання ДОН-1R в технології нарощення біомаси кормового зоопланктону забезпечує пришвидшення росту культур.

8. Накопиченням нітрит-іонів у воді, яке спостерігається при збоях в роботі біофільтра, супроводжується нагромадженням метгемоглобіну, максимальна частка якого може перевищувати 50%. Посилення окиснювальних процесів на тлі накопичення метгемоглобіну, пригнічує метгемоглобінредуктазну активність та ензиматичну ланку антиоксидантного захисту. Відповідно, за дії високих концентрацій нітритів пріоритетними у відновленні MtHb та у забезпеченні антиоксидантного захисту стають неензиматичні механізми за участю низькомолекулярних сполук, таких як відновлений глутатіон та аскорбат, що робить доцільним введення останнього до складу гранульованого корму.

9. Введення у гранульований корм базальтового туфу з родовища «Полицьке 2» забезпечує підвищення в межах нетоксичного діапазону вмісту Купруму та Мангану в цільній крові осетрів, що дозволяє рекомендувати даний туф як мінеральну добавку при виготовленні гранульованих кормів для осетрових риб. Доведено, що використання базальтового туфу з даного родовища забезпечує ефективне звільнення води від розчинних форм нітрогену, що дозволяє його використовувати для тонкої очистки води в рибоводних установках замкнутого водопостачання, а також при періодичному культивуванні кормового зоопланктону. Використання природного та термічно активованого базальтового туфу позитивно впливає на динаміку росту монокультур кормових організмів, забезпечує збільшення максимальної їх щільності, пролонгує термін експлуатації культивацийного середовища.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. **Khudyi O., Khuda L.** Występowanie ryb jesiennotrawnych w basenie Dniestru // Aktualny stan i ochrona naturalnych populacji ryb jesiennotrawnych Acipenseridae, 2014. – Olsztyn: Instytut Rybactwa Środladowego. – S. 53–59. – *Здобувачем здійснено літературний пошук, проаналізовані власні дослідження, участь в написанні статті.*
2. **Khuda L., O. Khudyi** Nitrite-induced methemoglobinemia of freshwater fishes reared in recirculating aquaculture systems / Recirculation technologies in indoor and outdoor systems. Handbook. – Szarvas: HAKI, 2013. – P.22–30. –

Здобувачем виконана частина експериментальних досліджень, здійснена статистична обробка результатів, обговорено та узагальнено результати.

3. Скільський І.В., Хлус Л.М., Череватов В.Ф., Смірнов Н.А., Чередарик М.І., **Худий О.І.**, Мелешук Л.І. Червона книга Буковини. Тваринний світ. – Чернівці: ДрукАрт, 2007. – Т.2, ч. 1. – 260 с. – Здобувачем написаний розділ щодо іхтіофауни Буковини.

4. Kolman R., **Khudiyi O.**, Kushniryk O., Khuda L., Prusinska M., Wiszniewski G. Influence of temperature and Artemia enriched with ω -3 PUFAs on the early ontogenesis of Atlantic sturgeon, *Acipenser oxyrinchus* Mitchell, 1815 // Aquaculture Research. – 2018. – 49 (5). – P. 1740–1751. – (**Scopus, Web of Science**) – Здобувачем здійснено планування експерименту, проведений аналіз отриманих даних, написання статті.

5. Zvarych V., Nakonechna A., Marchenko M., **Khudiyi O.**, Lubenets V., Khuda L., Kushniryk O., Novikov, V. Hydrogen Peroxide Oxygenation of Furan-2-carbaldehyde via an Easy, Green Method // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2019. – 67. – P. 3114–3117. – (**Scopus, Web of Science**) – Здобувачем обґрунтована доцільність застосування препарату для інтенсифікації ростових процесів у риб.

6. Prusińska M., **Khudiyi O.**, Kolman R., Khuda L., Duda A., Wiszniewski G., Marchenko M., Kushniryk O. Impact of a polyunsaturated fatty acid supplement on enriching the nutritional value of brine shrimp nauplii, *Artemia* sp. // Fish. Aquat. Life. – 2018. – 26. – P. 173–184. – (**Scopus**) – Здобувачем здійснено керування проведенням експерименту, статистичний аналіз отриманих даних, підготовку статті.

7. **Khudiyi O.**, Kushniryk O., Khuda L., Marchenko M. Differences in nutritional value and amino acid composition of *Moina macrocopa* (Straus) using yeast *Saccharomyces cerevisiae* and *Rhodotorula glutinis* as fodder substrates // International Letters of Natural Sciences. – 2018. – 68. – P.27–34. – (**Web of Science**) – Здобувачем здійснено планування експерименту, проведено аналіз отриманих даних.

8. **Khudiyi O.**, Khuda L., Kushniryk O., Prusinska M., Kolman R., Marchenko M. An effectiveness of artemia nauplii enrichment with polyunsaturated fatty acids using a supplement Easy DHA Selco // Acta Biol. Univ. Daugavp. – 2017. – 17 (2). – P. 169–183. – (**Web of Science: BIOSIS Previews**) – Здобувачем здійснено розробку схеми експерименту, виконано частину досліджень, проведено аналіз отриманих даних.

9. **Khudiyi O.**, Marchenko M., Cheban L., Khuda L., Kushniryk O., Malishchuk I. Recirculating aquaculture systems waste water as a medium for increase of phytoplankton and zooplankton biomass // International Letters of Natural Sciences. – 2016. – 54. – P. 1–7. – (**Web of Science**) – Здобувачем здійснено планування експерименту, аналіз отриманих даних.

10. Prusińska M., Kushniryk O., **Khudiyi O.**, Khuda L., Kolman R. Impact of enriching larval brine shrimp (*Artemia* sp.) with a supplement containing polyunsaturated fatty acids on their growth and mortality // Archives of Polish

Fisheries. – 2015. – 23 (3). – P. 149–154. – (**Scopus**) – *Здобувачем здійснено статистичний аналіз отриманих даних, написання статті.*

11. Khuda L., **Khudyi O.**, Marchenko M. Peculiarities of methemoglobin recovery system in erythrocytes of sterlet under nitrite intoxication // *Inland Water Biology*. – 2015. – 8 (2). – P.195–199. – (**Scopus, Web of Science**) – *Здобувачем проведено частину експериментальних досліджень, здійснено статистичну обробку та аналіз результатів.*

12. Kushniryk O., **Khudyi O.**, Khuda L., Kolman R., Marchenko M. Cultivating *Moina macroscopa* Straus in different media using carotenogenic yeast *Rhodotorula* // *Archives of Polish Fisheries*. – 2015. – 23 (1). – P. 37–42. – (**Scopus**) – *Здобувачем здійснено планування експерименту, аналіз отриманих даних та написання статті.*

13. **Khudyi O.**, Kolman R., Khuda L., Marchenko M., Terteryan L. Characterization of growth and biochemical composition of sterlet, *Acipenser ruthenus* L., juveniles from the Dniester population reared in RAS // *Archives of Polish Fisheries*. – 2014. – 22 (4). – P. 249–256. – (**Scopus**) – *Здобувачем здійснено розробку схеми експерименту, проведено аналіз результатів та написання статті.*

14. **Khudyi O.**, Kobasa I., Kushniryk O., Khuda L. The application of basaltic tuffs in the technology of cultivation the live feed for fish – preliminary study // *Food and Environment Safety*. – 2015. – 14 (4). – P. 368–374. – (**EBSCO**) – *Здобувачем здійснено планування експерименту, проведений аналіз та узагальнення отриманих результатів.*

15. Kolman R., **Chudy O.**, Terteryan L. Zarybienie narybkami sterlata gornego Dniestru // *Komunikaty rybackie*. – 2013. – № 5. – S. 15–16. – (**Index Copernicus Int.**) – *Здобувачем здійснено відлов плідників, організацію зариблення, участь в написанні статті.*

16. Kolman R., **Khudyi O.**, Zubkova E., Wiszniewski G., Duda A. Perspektywy odbudowy naturalnej populacji sterleta *Acipenser ruthenus* L. w basenie Dniestru *Komunikaty rybackie*. – 2016. – № 4. – S. 34–37. – (**Index Copernicus Int.**) – *Здобувачем запропоновані концептуальні підходи стратегії відтворення стерляді в Дністрі, участь в написанні статті.*

17. **Худый А.И.** Адаптивные изменения в экстерьере вырезуба в связи с зарегулированием предгорного участка Днестра // *Вопросы рыбного хозяйства Беларуси*. – 2018. – Вып. 34. – С. 268–275.

18. **Худый А.И.**, Кушнирык О.В. Сравнительная характеристика сезонной динамики развития сообществ зоопланктона в системе рыбохозяйственный пруд-река // *Экологический мониторинг и биоразнообразие*. – 2011. – 6 (1). – С. 52–55. – *Здобувачем здійснено збір матеріалу, обраховані кількісні показники розвитку угруповань зоопланктону, проаналізовано отримані результати.*

19. **Худый А.И.** Морфо-экологические адаптации леща (*Abramis brama* L.) в условиях зарегулирования предгорного участка Днестра // *Buletin stiintific. Etnografie, stiintele naturii si muzeologie. Serie noua. Stiintele naturii*. – Chisinau, 2007. – № 6 (19). – P. 104–109.

20. **Khudyi O.I.**, Cheban L.M., Khuda L.V., Dzhuravets Y., Shershen T., Sumyk Y., Kushniryk O., Prusinska M. Effect of algal monocultures and combined algal drug on the survival of *Artemia nauplii* // Scientific Herald of Chernivtsy University. Biology (Biological Systems). – 2018. –10 (2). – 125–129. – (**Index Copernicus Int.**) – *Здобувачем висунуто ідею використання монокультур водоростей та альгопрепаратів, проведена частина досліджень з визначення розмірних характеристик науплій, проаналізовано результати.*
21. Галоян Л. Л., **Худий О. І.**, Тертерян С. В. Мрук А. І., Худа Л. В. Застосування продукційних кормів різних виробників при вирощуванні райдужної форелі в умовах індустріальної аквакультури // Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи). – 2016. –8 (2). – С. 15–19. – (**Index Copernicus Int.**) – *Здобувачем здійснено аналіз, обговорення та узагальнення отриманих результатів, написання статті.*
22. **Худий О. І.**, Худа Л. В., Голубев М. І., Бабин В. О., Джуравець Ю. Ю. Лабораторне виготовлення гранульованих кормів-основ для вивчення ефекту біологічно активних добавок при вирощуванні осетрових риб // Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи). – 2016. –8 (1). – С. 15–19. – (**Index Copernicus Int.**) – *Здобувачем здійснено планування експерименту, узагальнення отриманих результатів, написання статті.*
23. Кушнірик О. В., **Худий О. І.**, Худа Л. В. Гідролітична активність та поживна цінність *Simoecephalus vetulus* (Muller) при культивуванні з різними кормовими субстратами // Вісник Одеського національного університету. Серія: Біологія. – 2015. – Том 20, Вип. 1(36). – С. 115–120. – (**Index Copernicus Int.**) – *Здобувачем здійснено розробку ідеї досліджень, запропонована схема експерименту, проведено узагальнення результатів.*
24. **Худий О.І.**, Худа Л.В., Цапок О.І. Характеристика ростових процесів вирезуба *Rutilus frisii* (Nordmann) в умовах Дністровського водосховища // Доповіді НАН України. – 2008. – №7. – С. 175–178. – *Здобувачем здійснено збір матеріалу, проведена статистична обробка результатів, написання статті.*
25. Кушнірик О.В., **Худий О.І.** Амінокислотний склад *Simoecephalus vetulus* (Muller) за умов використання різних видів дріжджів як кормових субстратів // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. – 2015. – 3-4 (64). – С. 388–391. – *Здобувачем проаналізовані та обговорені отримані результати.*
26. Худа Л., Прусінська М., **Худий О.**, Кушнірик О.В., Кольман Р., Липка Н.П. Застосування препаратів поліненасичених жирних кислот у технології раннього вигодовування осетрових риб // Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи). – 2015. – 7 (2). – С. 163–170. – *Здобувачем підготовлені зразки для визначення жирнокислотного профілю личинок осетрів, здійснено статистичну обробку даних, обговорення результатів.*
27. Кушнірик О. В., Марченко М. М., **Худий О. І.**, Васіна Л. М., Худа Л. В., Кавуля О. М. Застосування каротинсинтезуючих дріжджів *Rhodotorula glutinis* для культивування *Simoecephalus vetulus* Muller у лабораторних умовах // Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні

системи). – 2014. – 6 (1). – С.25–30. – *Здобувачем здійснено обговорення та написання відповідних розділів статті.*

28. Худа Л. В., Марченко М. М., **Худий О. І.** Інтенсивність окислювальних процесів у еритроцитах коропа за умов нітритної інтоксикації // Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи). – 2013. – 5 (1). – С.16–21. – *Здобувачем проведено частину експериментальних досліджень, проведена статистична обробка та обговорення результатів.*

29. Худа Л. В., Марченко М. М., Хачман Я. Ю., **Худий О. І.** Вплив нітритної інтоксикації на систему відновлення метгемоглобіну в еритроцитах карася сріблястого // Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи). – 2012. – 4 (4). – С. 394–397. – *Здобувачем проведено частину експериментальних досліджень, проведена статистична обробка та обговорення результатів.*

30. **Худий О. І.**, Корчак Л. М., Худа Л. В. Характеристика гідроекологічних умов та структури іхтіокомплексу Дністровського водосховища в контексті відновлення промислового освоєння рибних запасів // Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи). – 2010. – 2 (1). – С.70–72. – *Здобувачем здійснено визначення гідрохімічних показників, проведено збір іхтіологічного матеріалу, обговорені результати.*

31. **Худий О. І.**, Корчак Л. М. Адаптивні зміни в екстер'єрі окуня (*Perca fluviatilis* Linnaeus) на зарегулювання течії в умовах передгірської ділянки середнього Дністра // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету ім. Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. – 2008. – 3 (37). – С.169–171. – *Здобувачем здійснено збір та камеральну обробку матеріалу, обговорені та узагальнені результати.*

32. Гарматюк О. М., **Худий О. І.** Попередні дослідження показників зараження риб водойм Буковини паразитами *Ligula intestinalis* (Linnaeus) та *Pomphorhynchus laevis* (Muller) // Науковий вісник Чернівецького університету. Серія: Біологія. – 2007. – Вип. 343. – С. 22–29. – *Здобувачем проведено збір іхтіологічного матеріалу, проведено аналіз та обговорення результатів, написання статті.*

33. **Худий О. І.**, Клепач Д. В. Іхтіофауна малих рік басейну Прута в межах Чернівецької області // Науковий вісник Чернівецького університету. Серія: Біологія. – 2006. – Вип. 293. – С. 3–7. – *Здобувачем здійснено збір частини матеріалу, обговорення та написання статті.*

34. **Худий О.І.** Особливості зміни екстер'єру плітки (*Rutilus rutilus* L.) внаслідок зарегулювання передгірської ділянки течії Дністра // Наукові записки Тернопільського національного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. – 2005. – 3 (26). – С.463–465.

35. **Худий О. І.** Поширення «червонокнижних» видів риб в басейнах Дністра, Пруту та Сірету в межах західного регіону України // Матеріали до 4-го видання Червоної книги України. Тваринний світ / Серія: «Conservation Biology in Ukraine». – Вип. 7, Т. 2. – Київ, 2018. – С. 339–346.

36. Костоусов В. Г., Корабельникова О. В., **Худый А. И.** О возможности реституции вырезуба (*Rutilus frisii*, Nordman) в бассейне верхнего Днепра / Костоусов В.Г. // Актуальные проблемы зоологической науки в Беларуси: Сборник статей XI Зоологической Международной научно-практической конференции, приуроченной к десятилетию основания ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам» (Беларусь, Минск, 1-3.11.2017 г.). – Т.1. – Минск: Издатель А.Н. Вараксин, 2017. – С. 204–213. – *Здобувачем проведено збір даних з території України.*
37. **Khudyi O.** Fish biodiversity of the Dniester, Prut and Siret basin systems within western region of Ukraine // Academician Leo Berg – 140: Collection of Scientific Articles. – Chisinau: Eco-TIRAS, 2016. – P. 557–561.
38. **Khudyi A., Khuda L.** Dniestro baseino sterlės biologija // Eršketinės žuvis. Praeitis, dabartis ir ateitis. – Vilnius, 2014. – P. 32–36. – *Здобувачем здійснено літературний пошук, проаналізовані власні дослідження, участь в написанні статті.*
39. Гарматюк О. М., **Худый А. И.** Анализ состояния изученности ихтиопаразитофауны реки Днестр // Поведение, экология и эволюция животных: монографии, статьи, сообщения. Сб. научных трудов РГУ имени С.А. Есенина (Серия Зоологическая). Т. 3. – Рязань: НП «Голос губернии», 2012. – С. 267–287 – *Здобувачем здійснено літературний пошук, узагальнення результатів.*
40. Худая Л. В., **Худый А. И.** Характеристика гидрохимического режима верховий Днестровского водохранилища // Академику Л.С. Бергу – 135 лет: Сборник научных статей. – Бендеры: Eco-TIRAS, 2011. – С.191–194. – *Здобувачем проведено частину гідрохімічних досліджень, обговорення результатів, написання статті.*
41. **Худий О.** Сучасний стан іхтіоценозів транскордонних водотоків Чернівецької області // Україна – Румунія: транскордонне співробітництво. Збірник наукових праць. – Чернівці: Рута, 2007. – С.209–220.
42. Патент на корисну модель № 101103. С12N 1/12 Спосіб культивування фітопланктону / Марченко М.М., **Худий О.І.**, Чебан Л.М., Худа Л.В., Маліщук І.В.; опуб. Бюл. № 16/2015, від 25.08.2015 – *Здобувачем запропонований концептуальний підхід до організації дослідження, участь в обговоренні результатів.*
43. Патент на корисну модель № 104602. А01К 67/033 Спосіб культивування зоопланктону на скидній воді із рибоводної установки / Марченко М.М., **Худий О.І.**, Худа Л.В., Чебан Л.М., Кушнірик О.В.; опуб. Бюл. № 3/2016, від 10.02.2016 – *Здобувачем здійснено планування дослідження, участь в обговоренні результатів.*
44. Патент на корисну модель № 121772. А01К 61/20, С12N 1/11 Спосіб вирощування *Daphnia magna* (Srtaus, 1820) сумісно з кормовим субстратом (мікроводоростями) / Марченко М. М., Чебан Л. М., Гринько О. Е., **Худий О. І.**, Кушнірик О. В., Худа Л. В., Дорош І. В. / Бюл. № 23 від 11.12.2017 – *Здобувачем здійснено планування дослідження, участь в обговоренні результатів.*

45. **Khudyi O.**, Grynko O. Structure of Fish Fry Communities in the Dniester Reservoir in 2017 // The 4th International Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB 2018) (3–6 July 2018, Kyiv). – Kyiv, 2018. – P. 402. – *Здобувачем проведено частину польових досліджень, визначення видів малька, написання тез.*
46. Kushniryk O., **Khudyi O.**, Khuda L., Marchenko M., Novikov V. Application of DON-1R drug in the technology of live feed cultivation for fishes // Ukr. Biochem. J. – 2017. –89 (3). – P. 71. – *Здобувачем здійснено планування експерименту, узагальнення результатів дослідження, написання тез.*
47. Кушнірик О. В., **Худий О. І.**, Худа Л. В. Вміст каротиноїдів у *Moina macroscopa* (Straus, 1820) за умов вигодовування каротинсинтезуючими дріжджами *Rhodotorula glutinis* та *Rhodotorula rubra* // Ukr. Biochem. J. – 2014. – 86 (5). (Supplement 2). – P. 199–200. – *Здобувачем розроблена схема експерименту, проведено обговорення результатів, написання тез.*
48. **Khudyi O.**, Kushniryk O., Khuda L., Prusinska M., Kolman R. Impact of ω -3 PUFA bioencapsulation technology on the growth and survival rate of artemia nauplii // 2nd International Aquaculture Conference “Recirculating Aquaculture Systems (RAS): Life Science and Technologies” (2017.05.04). Book of Abstracts. – Daugavpils: Daugavpils University Academic Press “Saule”, 2017. – P.27–28. – *Здобувачем розроблена схема експерименту, проведено лабораторні дослідження, обговорені та узагальнені результати.*
49. **Khudyi O.**, Marchenko M., Khuda L., Kushniryk O., Babyn V. The fatty acids profile of krill meal produced in Ukraine // State and prospects of food science and industry: Book of abstracts of the IV International Scientific and Technical Conference (Ternopil, 11–12 October 2017). – Ternopil: Publishing TNTU Ivan Puluj, 2017 – P. 149–150. – *Здобувачем виконана частина експериментальних досліджень, узагальнено результати, участь у написанні тез.*
50. **Худий О.**, Кольман Р., Худа Л., Кушнірик О., Прусінська М., Чебан Л., Дуда А. Смертність та розміри науплій артемії за умов використання дріжджового препарату NUPRO // Проблеми функціонування та підвищення біопродуктивності водних екосистем: матеріали II Міжнародної науково-практичної конференції (12–15 вересня 2017р., м. Дніпро). – Дніпро: Вид-во ПЦ «Формат», 2017. – С.75–77. – *Здобувачем розроблена схема експерименту, здійснена статистична обробка результатів та проведено їх обговорення.*
51. Худа Л.В., Кушнірик О.В., **Худий О.І.** Амінокислотний профіль кормового зоопланктону *Moina macroscopa* та *Moina micrura* // Тернопільські біологічні читання – Ternopil Bioscience –2017. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю (20-22 квітня 2017 р., Тернопіль). – Тернопіль: ТОВ «Терно-граф», 2017. – С.151–155. – *Здобувачем сплановано експеримент, обговорено результати.*
52. Доманчук А.Г., Коржик В.П., **Худий О.І.** Відтворення аборигенних видів риб у Дністрі: перші кроки // Регіональні аспекти флористичних і фауністичних досліджень: матеріали Четвертої міжнар. наук.-практ. конф. (28–29.04.2017) – Чернівці: Друк Арт, 2017. – С. 7–14. – *Здобувачем проведено польові дослідження та розрахунок обсягів зариблення, написання матеріалів.*

53. Kolman R., **Khudiyi O.**, Zubcov E. Endangered species of sturgeon require active protection – restitution starlet population in the Dniestr // 9-th International Conference of Zoologist “Sustainable use, protection of animal world and forest management in the context of climate change”: dedicated to the 70th anniversary from the creation of the first research institutions and 55th of the inauguration and foundation of the Academy of Science of Moldlva, 12–13 October, Chisinau. – Chişinău: S.n., 2016. – P. 209–210. – *Здобувачем запропонована стратегія відтворення стерляді в Дністрі, участь в написанні тез.*
54. Kushniryk O., Prusinska M., **Khudiyi O.**, Khuda L., Kolman R., Duda A., Wiszniewski G. Effect of *Artemia* nauplii bioencapsulation with PUFA on fatty acids profile of *Acipenser oxyrinchus* larvae // Abstracts. The 9th International Congress of Comparative Physiology and Biochemistry, (23–28.09.2015, Kraków, Poland). – Kraków, 2015. – P. 339. – *Здобувачем запропонована схема експерименту, здійснена підготовка проб для визначення фракційного складу жирних кислот, участь у написанні тез.*
55. Кушнірик О. В., Худа Л. В., **Худий О. І.** Вплив різних кормових субстратів на амінокислотний склад культури *Simocephalus vetulus* Muller // «Біотехнологія ХХІ століття»: тези доповідей ІХ Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченій 170 річниці від дня народження Іллі Мечникова (Київ, 24.04.2015). – К.: НТУУ «КПІ», 2015. – С. 59. – *Здобувачем обговорені та узагальнені результати.*
56. **Худий А.**, Худа Л., Мацепа І. Оценка возможности использования иммуномодулятора ДОН-1R при выращивании осетровых в УЗВ // Тезисы докладов Международного научно-практического семинара по индустриальной аквакультуре «Иновационные технологии рыбоводства в рециркуляционных системах» (Горки, Беларусь, 18–19 мая 2015). – Минск: РУП «Институт рыбного хозяйства», 2015. – С. 34. – *Здобувачем здійснено підбір доз препарату для використання в УЗВ.*
57. **Khudiyi A.**, Bezhenar R., Khuda L. Current status and development perspectives of pond fish culture in Chernivtsi Province, Ukraine // Aquaredpot Workshop on Innovative Outdoor Fish Farming Technologies. Abstracts. (Vodňany, Czech Republic, 19–20 May 2014). – Szarvas, 2014. – P. 21. – *Здобувачем проведено узагальнення інформації щодо стану аквакультури в регіоні.*
58. **Худий О. І.**, Худа Л. В., Банар Т. І., Кушнір І. А. Характеристика ростових процесів дністровської стерляді в установці замкнутого водопостачання // Проблеми функціонування та підвищення біопродуктивності водних екосистем: матеріали Міжнародної науково-практичної дистанційної конференції, присвяченої 110-річчю до дня народження професора Г.Б. Мельникова (24–25.04.2014, Дніпропетровськ). – Дніпропетровськ: ДНУ, 2014. – С. 169–172. – *Здобувачем розроблена схема експерименту, проведено обговорення результатів, написання тез.*
59. Кушнірик О. В., **Худий О. І.**, Худа Л. В., Малиш Н. І. Використання каротинсинтезуючих дріжджів *Rhodotorula glutinis* та *Rhodotorula rubra* у культивуванні *Moina macroscopa* (Straus, 1820) // Біотехнологія ХХІ: тези

доповідей VIII Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченої 200 річниці з дня народження Т.Г. Шевченка (Київ, 25.04.2014). – К.: НТУУ«КПІ», 2014. – С. 42–43. – *Здобувачем проведено планування експерименту та узагальнення отриманих результатів.*

60. **Худий О.І.** Реєстр знахідок осетрових у басейні Дністра // Сучасні проблеми теоретичної та практичної іхтіології: матеріали VII Міжнародної іхтіологічної науково-практичної конференції (Мелітополь-Бердянськ, 10-13 вересня 2014 р.). – Херсон: Видавець Гринь Д.С., 2014. – С. 256–266.

61. **Худий А.**, Кольман Р., Худая Л., Марченко М.М., Тертерян Л.А., Здановски Б., Тертерян Л.Л., Прусинска М. Днестровская стерлядь: опыт выращивания в рециркуляционных системах // Сучасні проблеми теоретичної та практичної іхтіології: матеріали VI Міжнародної іхтіологічної науково-практичної конференції (Тернопіль, 9–12.10.2013). – Тернопіль: Вектор, 2013. – С. 297–300. – *Здобувачем здійснено вилов плідників та узагальнення результатів по їх доместикації.*

62. **Khudyi O.**, Marchenko M., Khuda L., Mruk A., Terteran L. Sex reversion in rainbow trout under industrial conditions growing // 5-th Polish-Ukrainian Weigl Conference on Microbiology (Chernivtsi, May 23–25, 2013). – Chernivtsi, 2013, – P. 100. – *Здобувачем здійснено літературний пошук результатів аналогічних досліджень та їх узагальнення, участь у написанні тез.*

63. Khuda L.V., **Khudyi O.I.** The problem of nitrite intoxication of fish when grown in recirculating systems // AQUARED POT Workshop on Recirculating Aquaculture. Abstracts. (Vilnius, Lithuania, 13-14 May 2013). – Szarvas: Reseach Institute for Fisheries, Aquaculture and Irrigation, 2013. – P.18. – *Здобувачем проведено обговорення отриманих результатів та написання тез.*

64. **Khudyi O.**, Khuda L. The distribution of alien fish species in the waters of Northern Bukovina and Northern Bessarabia (Ukraine) // The IV International symposium “Invasion of alien species in Holarctic” (Borok – 4) (September 22-28, 2013). – Borok, 2013. – P. 82. – *Здобувачем проведено польові дослідження, визначення видів, здійснено літературний пошук, написання тез.*

65. Кушнирык О.В., **Худый А.И.** Пространственное распределение зоопланктона в средней части Днестровского водохранилища в летний период // Управление трансграничной рекой Днестр в рамках бассейнового Договора: междунар. конференция (20-21 сентября 2013 г., Кишинев). – Кишинев, 2013. – С. 206–210. – *Здобувачем проведено частину гідробіологічних досліджень, обговорення результатів, написання матеріалів.*

66. **Khudyi O.**, Khuda L. The population state of vyrezub *Rutilus frisii* (Nordmann, 1840) in the Dniester basin // International conference “Resources of eels and other migratory fish species”. Abstracts. (Vilnius, Lithuania, 16-17 May 2013) – Vilnius, 2013 – P. 71–72. – *Здобувачем проведено збір іхтіологічного матеріалу та узагальнення даних Чернівцідержрибоохорони.*

67. Чередарик М.И., **Худый А.И.** Влияние паводковых стоков на продукционно-деструкционные процессы в горных гидрозкосистемах // Экологический мониторинг и биоразнообразие: материалы IV

международной научно-практической конференции (Ишим, 18-19 апреля 2012 г.). – Ишим: Изд-во ИГПИ им. Ершова, 2012. – С. 229–233. – *Здобувачем здійснено літературний пошук та узагальнення результатів досліджень, написання тез.*

68. **Худий О. І.**, Худа Л. В. Розвиток малої гідроенергетики в карпатському регіоні України: аналіз можливих ризиків та пошук шляхів їх мінімізації для іхтіофауни // Сучасні проблеми теоретичної і практичної іхтіології: матеріали V Міжнародної іхтіологічної науково-практичної конференції (Чернівці, 13–16.09.2012). – Чернівці: Книги–XXI, 2012. – С. 244–247. – *Здобувачем здійснено літературний пошук та узагальнення наявної інформації щодо впливу малих ГЕС на гідроекосистеми, написання тез.*

69. Романчич О.О., **Худий О.І.** Структура локальних угруповань риб у мілководних рдестових заростях Дністровського водосховища // Оцінка екологічного стану території та перспективи розвитку туризму і рекреації Чернівецької області. Горбуновські читання (м. Чернівці, 19.04.2012). – Чернівці: ЧФ НТУ «ХПІ», 2012. – С. 70–71. – *Здобувачем проведені іхтіологічні збори, визначення видової приналежності риб, статистичну обробку, написання тез.*

70. **Khudiy O.**, Korchak L., Bezhenar R., Lukan O. Danube streber and zingel distribution in the rivers of Northern Bukovina // First International Conference of Fish Diversity of Carpathians (Stara Lesna, Slovakia, 22–23.09.2011) – Bratislava: Institute of Zoology SAS, 2011. – P. 22–23. – *Здобувачем проведені іхтіологічні дослідження, здійснено літературний пошук та узагальнення результатів, написання тез.*

71. **Худий О.І.** Прояви статевого диморфізму в популяції вирезуба *Rutilus frisii* (Nordmann) з Дністровського водосховища // Збереження генофонду та відновлення популяцій цінних видів риб. – К.: ДІА, 2011. – С. 103–108.

72. **Худий О. І.**, Беженар Р. В., Лукань О. В. Раритетна іхтіофауна річки Черемош // IV Міжнародна іхтіологічна науково-практична конференція «Сучасні проблеми теоретичної та практичної іхтіології». (Одеса, 7–11.09.2011р.) – Одеса: Фенікс, 2011. – С. 234–237. – *Здобувачем проведені іхтіологічні дослідження, здійснено літературний пошук та узагальнення результатів, написання тез.*

73. **Худий О.І.**, Гарматюк О.М., Рябко Г.Д., Кудер В.О. Попередні дослідження показників зараженості риб Дністровського водосховища паразитами // Охорона довкілля та проблеми збалансованого природокористування: матеріали міжнародної конференції (м. Кам'янець-Подільський, 10–11.05.2011). – Кам'янець-Подільський: Мошинський, 2011. – С. 109–111. – *Здобувачем здійснено планування експерименту, узагальнення результатів дослідження, написання тез.*

74. Чередарик М.І., **Худий О.І.** Оцінка стану гірських екосистем східних схилів Карпат // Всеукраїнська науково-практична конференція «Регіональні та транскордонні проблеми екологічної безпеки. Горбуновські читання». Тези доповідей. (м. Чернівці, 5–7 травня 2011 р.) – Чернівці:

Прут, 2011. – С. 178–179. – *Здобувачем здійснено літературний пошук та узагальнення результатів досліджень, написання тез.*

75. **Худий О. І.**, Худа Л. В. Низхідна міграція білого товстолобика через греблю Дністровського водосховища // Сучасні проблеми теоретичної та практичної іхтіології. Матеріали III Міжнародної іхтіологічної науково-практичної конференції (Дніпропетровськ, 30 вересня-2 жовтня, 2010р.) – Дніпропетровськ, 2010. – С.189–192. – *Здобувачем проведені іхтіологічні дослідження, здійснено літературний пошук та узагальнення результатів, написання тез.*

76. Крисько І.С., **Худий О.І.**, Петрак С.В. Характеристика інтенсивності спортивно-любительського рибальства на Дністровському водосховищі // Стан та перспективи використання водного басейну Поділля: промислові, екологічні, туристичні аспекти: матеріали міжнародної науково-практичної конференції (Кам'янець-Подільський, 13-14 жовтня, 2010 р.) – Кам'янець-Подільський, 2010. – С. 89–91. – *Здобувачем проведено аналіз результатів рейдових перевірок держрибоохорони, написання тез.*

77. **Худий А. И.**, Корчак Л. Н., Беженар Р. В., Смирнов Д. А. Размерно-весовая характеристика чопа малого *Zingel streber* (Siebold) из реки Прут // Экология, эволюция и систематика животных: Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (Рязань, 17-19 ноября 2009 г.). – Рязань: НП «Голос губернии», 2009. – С. 292–293. – *Здобувачем розроблена схема експерименту, проведено статистичний аналіз результатів, написання тез.*

78. **Худий О. І.**, Худа Л. В. Гідрохімічна характеристика передгірської ділянки течії ріки Прут // Збірка матеріалів II Міжнародної конференції «Сучасні проблеми біології, екології та хімії» (Запоріжжя, 01-03 жовтня 2009р.). – Запоріжжя, 2009. – С.108–109. – *Здобувачем проведено частину гідрохімічних досліджень, обговорення результатів, написання тез.*

79. **Худий О. І.**, Худа Л. В., Цапок О. Л. Гістологічна характеристика яєчників статевозрілих самок туводної форми вирізува *Rutilus frisii frisii* (Nordmann) Дністровського водосховища // Тези II Міжнародної іхтіологічної науково-практичної конференції (Севастополь, 16–19.09.2009). – Севастополь, 2009. – С. 165–167. – *Здобувачем проведено опис гістологічних препаратів, участь у написанні тез.*

80. **Худый А.И.** К вопросу о распространении и численности туводной популяции вырезуба в системе Днестр-Днестровское водохранилище // Управление трансграничным бассейном реки Днестр и Водная Рамочная Директива Европейского Союза. Материалы Международной конференции. Кишинев, 2-3 октября 2008 г. – Кишинев: Есо-Tiras, 2008. – С. 160 – 162.

81. **Худий О.І.** Актуальні проблеми іхтіоценозу Дністровського водосховища // Тези I Міжнародної науково-практичної конференції «Сучасні проблеми теоретичної та практичної іхтіології» (18-21 вересня 2008 р., Канів) – Канів, 2008. – С. 152–155.

82. Чередарик М.И., Худый А.И. Альгофлора горных рек восточной части Карпатского региона Украины // Современные проблемы альгологии: Материалы международной научной конференции и VIII Школы по морской биологии (9-13 июня 2008 г., Ростов-на-Дону). – Ростов-на-Дону: Изд-во ЮНЦ РАН, 2008. – С. 384–386. – *Здобувачем проведено частину гідробіологічних досліджень, обговорення результатів, написання статті.*
83. Скільський І., Хлус Л., Худий О. Раритетний компонент фауни транскордонних територій в межах Буковини: сучасний стан та проблеми збереження // Україна–Румунія: результати і перспективи транскордонного співробітництва в контексті євроінтеграційних процесів: Матеріали міжнародної наукової конференції, Чернівці, 17–18 квітня 2007 р. – Чернівці: Рута, 2007. – С.176–178. – *Здобувачем проведено іхтіологічні дослідження, здійснено літературний пошук та узагальнення результатів, написання іхтіологічної частини представлених матеріалів.*

АНОТАЦІЯ

Худий О. І. Біотехнологічні засади збереження та відтворення рибних ресурсів водойм Карпатського регіону. – На правах рукопису.

Дисертаційна робота на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія. – Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського» МОН України, Київ, 2019.

Дисертація присвячена розробці біотехнологічних підходів задля підвищення ефективності технологій штучного відтворення аборигенних видів риб Карпатського регіону. Утримання вилучених з природних умов плідників стерляді прісноводної, вирезуба причорноморського та марени звичайної в УЗВ дозволило відпрацювати та вдосконалити основні ланки технологічного процесу вирощування даних видів, починаючи від процедури доместикації та закінчуючи реінтродукцією отриманого зарибку, а також формуванням ремонтно-маточного стада з вирощених вже в неволі особин. Для зменшення втрат при переведенні личинок на зовнішнє живлення та отримання зарибку аборигенних видів з підвищеною життєстійкістю запропоновано біотехнології створення функціональних стартових живих кормів із підвищеним вмістом поліненасичених жирних кислот та каротиноїдів. Для попередження нутрієнтної депривації живих кормів застосовано препарати на основі дріжджової та водоростевої біомаси. Запропоновані ефективні схеми біоінкапсуляції забезпечують підвищення вмісту цільових продуктів у кормових організмах, не викликаючи підвищення рівня їх смертності. Показано, що біоінкапсульовані стартові живі корми позитивно впливають на виживаність та ростові процеси личинок риб. Вперше показана можливість використання γ -критонолактонвмісного препарату ДОН-1R в умовах УЗВ. Встановлено, що додавання препарату в корм стимулює підвищення темпів масонакопичення в осетрових риб. Вирощування риб у рециркуляційних

системах при незадовільній роботі біофільтра супроводжується накопиченням нітрит-іонів, що викликає посилене формування метгемоглобіну, частка якого може перевищувати 50%. Доведено, що ефективно звільнення води від розчинних форм Нітрогену забезпечує використання базальтового туфу з родовища «Полицьке 2», що дозволяє використовувати його для тонкої очистки води в рибоводних УЗВ, а також при культивуванні кормових організмів.

Ключові слова: біотехнологія, індустріальна аквакультура, штучне відтворення, біоінкапсуляція, реінтродукція.

АННОТАЦИЯ

Худый А. И. Биотехнологические основы сохранения и воспроизводства рыбных ресурсов водоемов Карпатского региона. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.00.20 – биотехнология. – Национальный технический университет Украины «Киевский политехнический институт имени Игоря Сикорского» МОН Украины, Киев, 2019.

Диссертация посвящена разработке биотехнологических подходов для повышения эффективности технологий искусственного воспроизводства аборигенных видов рыб Карпатского региона. Содержание изъятых из природных условий производителей стерляди пресноводной, вырезуба причерноморского и усаха обыкновенного в УЗВ позволило отработать и усовершенствовать основные звенья технологического процесса выращивания данных видов, начиная от процедуры доместикации и заканчивая реинтродукцией полученного зарыбка, а также формированием ремонтно-маточного стада из выращенных уже в неволе особей. Для уменьшения потерь при переводе личинок на внешнее питание и получения зарыбка аборигенных видов с повышенной жизнестойкостью, предложены биотехнологии создания функциональных стартовых живых кормов с повышенным содержанием полиненасыщенных жирных кислот и каротиноидов. Для предупреждения нутриентной депривации у живых кормов обосновано применение препаратов на основе дрожжевой и водорослевой биомассы. Предложенные эффективные схемы биоинкапсуляции обеспечивают повышение содержания целевых продуктов в кормовых организмах, не вызывая повышение уровня их смертности. Показано, что биоинкапсулированные стартовые живые корма положительно влияют на выживаемость и ростовые процессы личинок рыб. Впервые показана возможность использования γ -кrotnолактонсодержащего препарата ДОН-1R в условиях УЗВ. Продемонстрировано, что добавление препарата в корм стимулирует повышение темпов массонакопления у осетровых рыб. Выращивание рыб в рециркуляционных системах при неудовлетворительной работе биофильтра сопровождается накоплением нитрит-ионов, вызывая усиленное

формирование метгемоглобина, доля которого может превышать 50%. Доказано, что эффективное освобождение воды от растворимых форм азота обеспечивает использование базальтового туфа с месторождения «Полыцькэ 2», что позволяет его использовать для тонкой очистки воды в УЗВ, а также при культивировании кормовых организмов.

Ключевые слова: биотехнология, индустриальная аквакультура, искусственное воспроизводство, биоинкапсуляция, реинтродукция.

SUMMARY

Khudyi O. I. Biotechnological bases of fish resources conservation and reproduction in the water bodies of the Carpathian region. – *The manuscript.*

The thesis for doctor degree, specialty 03.00.20 – biotechnology. –National Technical University of Ukraine «Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute» of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kyiv, 2019.

The thesis was to develop and apply modern biotechnological approaches to increase the efficiency of artificial reproduction technologies of aboriginal fish species of the Carpathian region. The current state of ichthyocenoses in the basins of Dniester, Prut and Siret rivers within the western region of Ukraine is considered. Populations of species, which in other parts of the country have become rare or even disappeared, are preserved here altogether. Despite significant biodiversity, the volume of fish stocks, even in the most productive reservoirs of the region is extremely low. The analysis of the possible causes of the current situation did not reveal any critical problems with the pollution of the water environment or in the parasitological situation. It is shown that the potential fish productivity, calculated by the development level of the natural forage base, is more than three times the actual. Obviously, the low level of fish stocks is caused by violation of natural reproduction processes in populations of most fish species. One of the most effective ways of solving the current situation is the implementation of artificial reproduction under conditions of industrial aquaculture with the subsequent reintroduction of fish youth in the natural hydroecosystems. For the purpose of formation of broodstock herds of the aforesaid fish species, the sterlet, *Rutilus frisii* and common barbel were removed from the natural conditions on the basis of the permissions of the Ministry of Ecology and Natural Resources of Ukraine. The maintenance of individuals, removed from the nature, in the RAS allowed to develop and improve the basic links of the technological process of cultivating aboriginal fish, from the procedure of domestication to the reintroduction of the received fish stock and the formation of a broodstock herd from individuals already grown in the captivity. To reduce losses during the transfer of larvae to exogenous nutrition and to obtain a stocking of aboriginal species with increased vitality, biotechnologies have been proposed for creating functional starting live feeds with a high content of polyunsaturated fatty acids and carotenoids. The expediency of carotene-producing yeast usage of the genus *Rhodotorula* to saturate live feeds with carotenoids was proved and the mode of this procedure was developed. The use

of co-cultivation methods of *Rhodotorula* yeast with lactic acid bacteria allows efficient disposal of carbon-containing substrates, in particular, of milk whey. Lactic acid bacteria application has led to an improvement in the dynamics of cultures growth and increased carotenogenesis, in particular due to beta-carotene, torularhodine and torululene synthesis. The introduction of lactobacilli positively influenced the growth processes in fish larvae in the final result. At the same time there is a suppression of pathogenic and conditionally pathogenic microflora in the fish organism and in the water where they were grown. To prevent nutrient deprivation in live feeds, the use of preparations based on yeast and algal biomass has been substantiated. The proposed effective bioencapsulation schemes provide an increase in the content of target products in feed organisms, without causing an increase in their mortality rate. Also, the proposed schemes of bioencapsulation do not lead to inhibition of either proteolytic activity or lipase and amylolytic activity in live feeds. This has a positive effect on the level of hydrolytic enzymatic activity in the digestive tract of fish larvae. It was shown that bioencapsulated starting live feeds positively affect the survival and growth processes of fish larvae. The possibility of using γ -crotonolactone drug DON-1R under conditions of RAS is shown for the first time. It has been demonstrated that the addition of the drug to feed stimulates an increase in the rate of mass accumulation in sturgeon. Cultivating fish in RAS with poor performance of the biofilter is accompanied by accumulation of nitrite ions, causing an enhanced formation of methemoglobin, which can reach 50%. It has been proven that the effective release of water from soluble forms of nitrogen ensures the use of basalt tuff from the "Politske 2" deposit, which allows it to be used for fine water purification in the RAS, as well as in the cultivation of food organisms. The proposed biotechnological approaches to the conservation and reproduction of fish resources provided the opportunity to form reproductive herds of indigenous fish species under conditions of industrial aquaculture, to get fish stocking material for Dniester and Dniester reservoir.

Keywords: biotechnology, industrial aquaculture, artificial reproduction, bioincapsulation, reintroduction.

Підписано до друку 22.05.2019. Формат 60x84/16
Папір офсетний. Друк різнографічний. Ум.-друк. арк. 2,0.
Обл.-вид. арк. 2,0. Тираж 100. Зам. А-007.
Видавництво та друкарня Чернівецького національного університету
імені Юрія Федьковича
58002, Чернівці, вул. Коцюбинського, 2
e-mail: ruta@chnu.edu.ua

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК №891 від 08.04.2002 р.